



**KETOKSIKAN AKUT KOMBINASI EKSTRAK KELOPAK BUNGA
ROSELLA (*Hibiscus sabdariffa* L.) DAN DAUN JATI BELANDA (*Guazuma
ulmifolia* Lamk.) DENGAN PARAMETER KADAR SGOT DAN SGPT
TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus norvegicus*)**

SKRIPSI

Oleh

Putu Argianti Meyta Sari

NIM 122210101003

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2016



**KETOKSIKAN AKUT KOMBINASI EKSTRAK KELOPAK BUNGA
ROSELLA (*Hibiscus sabdariffa* L.) DAN DAUN JATI BELANDA (*Guazuma
ulmifolia* Lamk.) DENGAN PARAMETER KADAR SGOT DAN SGPT
TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus norvegicus*)**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Farmasi (S1) dan mencapai gelar
Sarjana Farmasi

Oleh
Putu Argianti Meyta Sari
NIM 122210101003

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER
2016**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ida Sang Hyang Widhi Wasa atas limpahan rahmat-Nya dalam setiap langkah;
2. Ibunda Ni Ketut Supanti dan Ayahanda I Made Jaya Sentana tercinta yang senantiasa memberikan doa, dukungan, bimbingan, kasih sayang tiada henti serta pengorbanan yang telaj dilakukan setiap waktu;
3. Guru-guru dari taman kanak-kanak sampai dengan perguruan tinggi, yang telah memberikan ilmu dan mendidik saya dengan penuh kesabaran untuk menjadikan saya manusia yang berilmu dan bertakwa;
4. Almamater yang saya banggakan, Fakultas Farmasi Universitas Jember

MOTO

Bagaikan katak yang akan datang sendiri kekubangan air, bagaikan burung yang akan datang sendiri ke telaga, demikianlah pada akhirnya kebahagiaan akan datang dengan sendirinya kepada mereka yang tekun melaksanakan laku (sadhana) kebajikan dan menaikkan tingkat kesadaran jiwa.
(Kitab Sarasamuscaya, sloka: 24)^{*)}

atau

Orang yang sama sekali tidak melakukan laksana dharma (tujuan agama), adalah seperti padi yang hampa atau telur yang busuk, kenyataannya ada tetapi tiada gunanya.
(Kitab Sarasamuccaya, sloka: 46)^{*)}

atau

As night looks delightful when the moon shines, so is a family gladdened by even one learned and virtuous son.
(Chanakya Niti Sastra Bab III Sloka 16)^{**)}

^{*)} Kajeng, I Nyoman. 1997. *Sarasamuscaya*. Jakarta: Hanuman Sakti.

^{**)} Davis, Miles. 1991. Chanakya Niti Sastra. http://sanskritdocuments.org/all_pdf/chaaNakyaNiti.pdf. [12 April 2016].

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Putu Argianti Meyta Sari

NIM : 122210101003

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Ketoksikan Akut Kombinasi Ekstrak Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) dan Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk.) dengan Parameter Kadar SGPT dan SGOT Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*)” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember,
Yang menyatakan,

Putu Argianti Meyta Sari
NIM 122210101003

SKRIPSI

**KETOKSIKAN AKUT KOMBINASI EKSTRAK KELOPAK BUNGA
ROSELLA (*Hibiscus sabdariffa* L.) DAN DAUN JATI BELANDA (*Guazuma
ulmifolia* Lamk.) DENGAN PARAMETER KADAR SGOT DAN SGPT
TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus norvegicus*)**

Oleh

Putu Argianti Meyta Sari
NIM 122210101003

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama (DPU) : Indah Yulia Ningsih, S.Farm., Apt., M.Farm

Dosen Pembimbing Anggota (DPA): Endah Puspitasari, S.Farm., M.Sc., Apt

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Ketoksikan Akut Kombinasi Ekstrak Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) dan Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk.) dengan Parameter Kadar SGPT dan SGOT Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*)” telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Senin, 18 Mei 2016

tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Pembimbing

Pembimbing Utama

Pembimbing Anggota

Indah Yulia Ningsih, S.Farm., Apt., M.Farm
NIP 198407122008122002

Endah Puspitasari, S.Farm., M.Sc., Apt
NIP 198107232006042002

Tim Penguji

Penguji I

Penguji II

Fransiska Maria C., S.Farm.,M.Farm.,Apt
NIP 198404062009122008

Ari Satia Nugraha, S.F., GdipSc., MSc-Res., Ph.D.,Apt
NIP 197807212003121001

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember

Lestyo Wulandari, S.Si.,Apt.,M.Si
NIP 197604142002122001

RINGKASAN

Ketoksikan Akut Kombinasi Ekstrak Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) dan Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk.) dengan Parameter Kadar SGPT dan SGOT Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*); Putu Argianti Meyta Sari, 122210101003; 2016; 59 halaman Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Indonesia merupakan negara ketiga setelah Brazil yang memiliki keanekaragaman hayati terbesar di dunia. Penggunaan tanaman obat untuk mengatasi berbagai penyakit telah dilakukan secara turun-temurun oleh masyarakat Indonesia. Salah satu tanaman yang digunakan untuk mengatasi penyakit hiperlipidemia adalah rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) dan jati belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk.).

Pada rosella terdapat kandungan flavonoid yakni antosianin yang diduga bertanggung jawab terhadap aktivitas antihiperlipidemia. Serta diketahui rosella memiliki aktivitas inhibitor lipase pankreas yang mampu menurunkan penyerapan dan pencernaan lipid makanan. Sedangkan daun jati belanda mengandung senyawa flavonoid yang dapat menghambat enzim HMG CoA reduktase yang berperan dalam proses pembentukan kolesterol, sehingga mampu menurunkan kolesterol dan trigliserida dalam darah.

Adanya mekanisme kerja yang berbeda memungkinkan terjadinya efek sinergisme sehingga dilakukan kombinasi kelopak bunga rosella dan daun jati belanda. Namun demikian, penggunaan kombinasi kelopak bunga rosella dan daun jati belanda dimungkinkan dapat menimbulkan efek toksik akibat adanya interaksi yang terjadi antara senyawa-senyawa yang terkandung dalam kedua tanaman tersebut. Oleh sebab itu, untuk mengetahui keamanan penggunaan dan sebagai dasar melakukan uji aktivitas dilakukan uji toksisitas kombinasi ekstrak kelopak bunga rosella dan daun jati belanda dengan metode OECD 423. Selain itu, dilakukan pengamatan ketoksikan dengan melihat kenaikan aktivitas *Serum Glutamate Pyruvate Transaminase* (SGPT) dan *Serum Glutamate Oxaloacetate Transaminase* (SGOT).

Penelitian ini merupakan jenis penelitian *true experimental* yang dilaksanakan pada bulan Maret 2015 di Laboratorium Fitokimia bagian Biologi Farmasi dan Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Jember. Sampel yang digunakan adalah tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) dengan berat 100-150 gram yang berumur 8-12 minggu. Jumlah sampel adalah 6 ekor tikus yang terbagi dalam 2 kelompok yakni kelompok kontrol normal dan kelompok perlakuan. Pada penelitian ini digunakan dosis awal 2.000 mg/kg BB yang terdiri dari perbandingan 1:1 kombinasi ekstrak kelopak bunga rosella dan daun jati belanda. Kombinasi ekstrak diberikan pada kelompok perlakuan, sedangkan kelompok kontrol normal diberikan CMC Na 0,5% dan tween. Keseluruhan kelompok diamati selama 14 hari. Jika terdapat 2-3 hewan uji yang mati, maka dosis diturunkan menjadi 300 mg/kg BB dengan dilakukan pemejanaan pada 3 hewan uji yang baru. Jika terdapat satu atau tidak ada sama sekali kematian hewan uji, maka dilakukan pengulangan dosis, yaitu dilakukan pemejanaan dengan dosis 2.000 mg/kg BB kembali dengan 3 hewan uji yang baru. Jika tidak ada sama sekali kematian hewan uji, setelah dilakukan pengulangan dosis 2.000 mg/kg BB, maka dosis dinaikan menjadi 5.000 mg/kg BB dengan dilakukan pemejanaan pada 3 hewan uji yang baru. Selain itu, pada hari pertama dan hari terakhir serum darah sampel penelitian diambil kemudian diukur untuk melihat nilai SGPT-SGOT sebelum dan sesudah perlakuan. Analisis data yang digunakan adalah uji T berpasangan dan uji T tidak berpasangan.

Dari hasil penelitian diperoleh kisaran nilai potensi ketoksikan akut oral (LD_{50}) kombinasi kelopak bunga rosella dan daun jati belanda pada tikus putih jantan adalah lebih besar dari 5.000 mg/kg BB yang merupakan kategori 5 atau tidak terklasifikasi menurut *Globally Harmonised Classification System* (GHS). Serta, tidak ada pengaruh yang signifikan untuk nilai SGPT dan SGOT pada masing-masing kelompok perlakuan. Apabila kelompok kontrol normal dan kelompok perlakuan dibandingkan terdapat perbedaan signifikan pada nilai SGOT akibat pemejanaan sediaan kombinasi ekstrak kelopak bunga rosella dan daun jati belanda.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Ida Sang Hyang Widhi Wasa atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul Ketoksikan Akut Kombinasi Ekstrak Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) dan Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk.) dengan Parameter Kadar SGPT dan SGOT Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*)". Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. Lestyo Wulandari, S.Si.,Apt.,M.Si selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember;
2. Prof. Drs. Bambang Kuswandi, M.Sc.,Ph.D selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama penulis menjadi mahasiswa;
3. Indah Yulia Ningsih, S.Farm.,Apt.,M.Farm selaku Dosen Pembimbing Utama dan Endah Puspitasari, S.Farm.,M.Sc.,Apt selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga, dan perhatian beliau dalam penulisan skripsi ini;
4. Fransiska Maria C., S.Farm.,Apt dan Ari Satia Nugraha, S.F.,GdipSc., MSc-Res.,Ph.D.,Apt selaku Dosen Penguji yang banyak memberikan kritik, saran, dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
5. Nuri, S.Si., Apt., M.Si. selaku Dosen yang memberikan bimbingan, bantuan dan inspirasi dalam penulisan skripsi ini;
6. Seluruh staf pengajar dan karyawan Fakultas Farmasi Universitas Jember atas bimbingan serta bantuannya selama ini;
7. Ayahanda I Made Jaya Sentana, SH dan Ibunda Ni Ketut Supanti tercinta yang tak henti-hentinya selalu memberikan doa dan dukungannya, menjadi sumber inspirasi bagi penulis untuk terus mengejar cita-cita dan memberikan yang terbaik;

8. Rekan Kerja sekaligus sahabat Novia Hilma dan Mahmudatus Sholiah yang telah membantu, mendampingi, dan memberikan semangat yang tak henti dari awal hingga selesainya skripsi ini;
9. Sahabat Komang Fridayanti Dewi, S.Ked yang selalu memberi motivasi, semangat, bantuan dan dukungan yang tak pernah putus selama penulisan tugas akhir ini;
10. Keluarga Besar Petruk Rolas FF UNEJ 2012 yang telah menuliskan berbagai catatan yang tak terlupakan dalam kesejawatan ini;
11. Keluarga Besar Kost Kobe Mega, Ayuk, Amik, Ulya, Anggi, Shopping, Ria dan Intan yang telah berbagi suka dan duka selama ada diperantauan;
12. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu, terima kasih atas segala bantuan dan kerjasamanya.

Penulis juga sangat menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan penulisan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, Mei 2016

Penulis

DAFTAR ISI

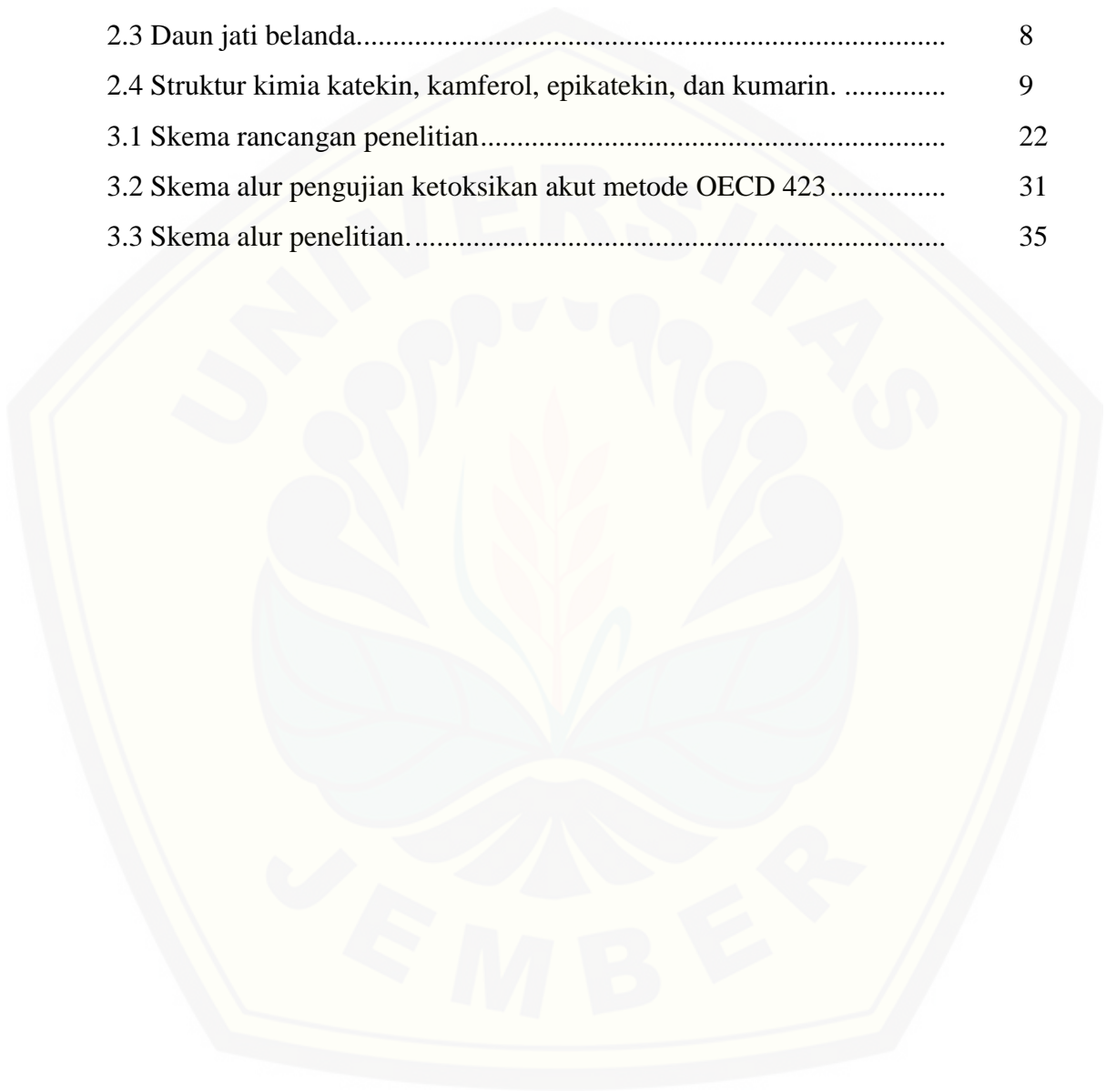
	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan	4
1.4 Manfaat	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Tinjauan Rosella	5
2.1.1 Klasifikasi Rosella.....	5
2.1.2 Deskripsi Rosella.....	6
2.1.3 Kandungan dan Efek Farmakologi Rosella	6
2.2 Tinjauan Jati Belanda	7
2.2.1 Klasifikasi Jati Belanda	7
2.2.2 Deskripsi Jati Belanda	8
2.2.3 Kandungan dan Efek Farmakologi Jati Belanda	9

2.3 Mekanisme Kerja Kelopak Bunga Rosella dan Daun Jati Belanda sebagai Antihiperlipidemia	10
2.4 Tinjauan tentang Toksikologi	11
2.4.1 Definisi Toksikologi	11
2.4.2 Asas Umum Toksikologi	12
2.5 Ruang Lingkup Toksikologi	15
2.6 Uji Toksikologi	15
2.7 Uji Toksikologi Akut	16
2.8 Uji Ketoksikan Akut Oral Metode 423	16
2.9 Tinjauan tentang Hati (Hepar)	19
2.10 SGPT dan SGOT	20
BAB 3. METODE PENELITIAN	22
3.1 Jenis Penelitian	22
3.2 Rancangan Penelitian	22
3.3 Variabel Penelitian	23
3.3.1 Variabel Bebas.....	23
3.3.2 Variabel Terikat.....	24
3.3.3 Variabel Terkendali	24
3.4 Definisi Operasional	24
3.5 Alat dan Bahan	24
3.5.1 Subyek Uji	24
3.5.2 Alat	25
3.5.3 Bahan	25
3.6 Tempat dan Waktu Penelitian	25
3.7 Prosedur Penelitian	25
3.7.1 Ekstraksi Kelopak Bunga Rosella	25
3.7.2 Ekstraksi Daun Jati Belanda	26
3.7.3 Uji Toksisitas Akut.....	26
3.7.4 Pembuatan Suspensi Kombinasi Ekstrak Kelopak Bunga Rosella dan Daun Jati Belanda pada Tingkat Dosis Tertentu	27

3.7.5 Uji Ketoksikan Akut dengan Metode OECD 423 (<i>Acute Toxic Class Method</i>)	29
3.7.6 Pengamatan.....	30
3.7.7 Pengukuran SGPT dan SGOT	30
3.7.8 Analisis Data.....	33
3.7.9 Skema Alur Penelitian.	35
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Pembuatan Ekstrak Kelopak Bunga Rosella	36
4.2 Pembuatan Ekstrak Daun Jati Belanda	36
4.3 Uji Ketoksikan Akut dengan Metode OECD 423	36
4.4 Pengukuran SGPT dan SGOT	37
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan	41
5.2 Saran	41
DAFTAR PUSTAKA	42
LAMPIRAN A	48
LAMPIRAN B	50
LAMPIRAN C	56
LAMPIRAN D	57

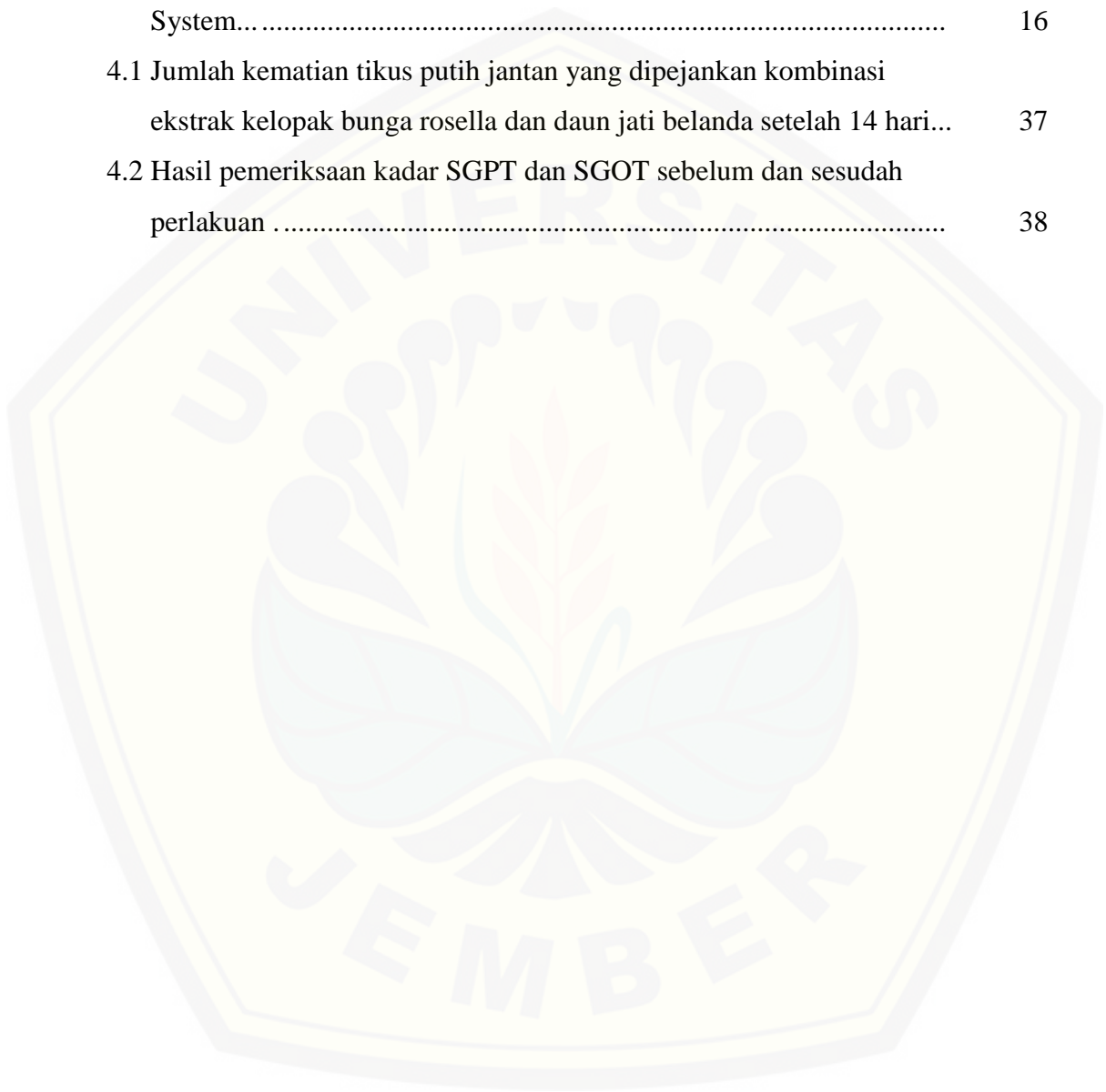
DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Kelopak bunga rosella.....	5
2.2 Struktur kimia antosianin	7
2.3 Daun jati belanda.....	8
2.4 Struktur kimia katekin, kamferol, epikatekin, dan kumarin.	9
3.1 Skema rancangan penelitian.....	22
3.2 Skema alur pengujian ketoksikan akut metode OECD 423	31
3.3 Skema alur penelitian.....	35



DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Klasifikasi LD50 pada Globally Harmonized Classification System.....	16
4.1 Jumlah kematian tikus putih jantan yang dipejankan kombinasi ekstrak kelopak bunga rosella dan daun jati belanda setelah 14 hari...	37
4.2 Hasil pemeriksaan kadar SGPT dan SGOT sebelum dan sesudah perlakuan	38



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Lembar Identifikasi Tanaman	48
A.1 Lembar Identifikasi Rosella	48
A.1 Lembar Identifikasi Daun Jati Belanda	49
B. Hasil Rendemen Ekstrak.	50
B. Perhitungan Dosis Uji Ketoksikan Akut.	51
C. Kadar SGPT dan SGOT.....	56
C.1 Kadar SGPT Sebelum dan Sesudah Perlakuan.	56
C.2 Kadar SGOT Sebelum dan Sesudah Perlakuan.....	56
D. Analisis Data.	57
D.1 Hasil Uji Normalitas Saphiro-Wilk Kelompok Kontrol Sebelum dan Sesudah Perlakuan.....	57
D.2 Hasil Uji Normalitas Saphiro-Wilk Kelompok Perlakuan Dosis 5.000 mg/kg BB Sebelum dan Sesudah Perlakuan.....	57
D.3 Hasil Levene's Test Sesudah Perlakuan Pada Kedua Kelompok.	58
D.4 Hasil Analisis Data SGPT dan SGOT Menggunakan Uji T Berpasangan Pada Kelompok Kontrol.	58
D.5 Hasil Analisis Data SGPT dan SGOT Menggunakan Uji T Berpasangan Pada Kelompok Perlakuan.	58
D.6 Hasil Analisis Data SGPT Menggunakan Uji T Tidak Berpasangan.	59
D.7 Hasil Analisis Data SGOT Menggunakan Uji T Tidak Berpasangan.....	59

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Di Indonesia prevalensi hiperlipidemia semakin meningkat akibat perilaku masyarakat yang cenderung mengonsumsi makanan rendah serat dan tinggi lemak. Hiperlipidemia adalah peningkatan salah satu atau lebih kolesterol, kolesterol ester, fosfolipid, atau trigliserid (Sukandar, 2013). Berdasarkan laporan Riskesdas Bidang Biomedis tahun 2007, prevalensi hiperlipidemia akibat kenaikan kolesterol adalah 39,8%. Dari hasil penelitian *Monitoring Trends and Determinants of Cardiovascular Disease* (MONICA) tahun 2002, diperoleh penderita hiperkolesterolemia sebesar 27,7%, (> 250 mg/dl), HDL 47,3%, (≤ 40 mg/dl), LDL 28,8% (≥ 160 mg/dl), trigliserida 22,0% (≥ 160 mg/dl), serta rasio kolesterol total / HDL 51,9% (≥ 5) (Tuminah, 2009). Hiperlipidemia merupakan salah satu faktor utama penyebab penyakit kardiovaskuler (Sukandar, 2013). Berdasarkan hasil Riskesdas 2007, diketahui bahwa penyebab kematian pada semua umur akibat penyakit tidak menular adalah penyakit kardiovaskuler (31,9%) termasuk di dalamnya stroke (15,4%), hipertensi (6,8%), penyakit jantung iskemik (5,1%) serta penyakit jantung lainnya (4,6%).

Indonesia merupakan negara ketiga setelah Brazil yang memiliki keanekaragaman hayati terbesar di dunia (LIPI, 2013). Indonesia ditumbuhi sekitar 37.000 jenis tumbuhan yang berpotensi untuk dikembangkan menjadi bahan obat (Bakosurtanal, 2001). Penggunaan tanaman obat telah dilakukan secara turun-temurun oleh masyarakat Indonesia. Penggunaan tanaman obat dianggap lebih aman serta ekonomis, meskipun masih ada efek samping yang didapatkan apabila digunakan secara tidak rasional. Oleh sebab itu, perlu adanya pengembangan pengobatan untuk obat tradisional (Sugiarto, 2008).

Salah satu tanaman yang digunakan untuk mengatasi hiperlipidemia adalah rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.). Rosella merupakan jenis tanaman anggota Malvaceae yang sering digunakan sebagai obat tradisional di Indonesia. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Lin *et al.* (2007), ekstrak rosella dapat menurunkan kadar kolesterol pada perempuan dan laki-laki. Selain itu pada

penelitian yang dilakukan oleh Gosain *et al.* (2010), diketahui bahwa ekstrak rosella yang diberikan pada tikus putih jantan memberikan efek hipolipidemik pada dosis 300 mg/kg. Pada penelitian Sari *et al.* (2013), ekstrak rosella dengan dosis 45 mg/kg BB dapat menurunkan penyerapan dan pencernaan lipid makanan paling baik diantara *Guazuma ulmifolia Lamk*, *Gynura procumbens* (Lour) Merr., dan *Murraya paniculata*.

Selain rosella, jati belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk.) juga dikenal dapat menurunkan kolesterol dan dapat digunakan sebagai pelangsing (Suharmiati dan Maryani, 2003). Berdasarkan penelitian Sari *et al.* (2013), ekstrak etanol daun jati belanda yang diberikan pada tikus putih jantan dengan dosis 59,6 mg/kg BB dapat menurunkan kadar kolesterol sebanding dengan kontrol positif orlistat. Selain itu, berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Sukandar *et al.* (2009), diketahui bahwa ekstrak daun jati belanda yang diberikan pada tikus jantan dengan dosis 50 mg/kg BB mampu menghambat peningkatan kadar kolesterol total dan LDL dibandingkan dengan kontrol simvastatin.

Kandungan beberapa senyawa fenol sederhana dan beberapa senyawa flavonoid (antosianin, antosianidin dan glikosida kuersetin), asam organik dan derivatnya, vitamin C (asam askorbat), B₁ (tiamin), dan B₂ (riboflavin), serta karotenoid (karoten) terdapat pada kelopak bunga rosella (Zarrabal *et al.*, 2012). Namun, kandungan antosianin pada kelopak bunga rosella diduga bertanggung jawab terhadap aktivitas antihiperlipidemia (Hopkins *et al.*, 2013). Sedangkan daun jati belanda mengandung senyawa golongan flavonoid, yakni katekin, kamferol, prosianidin, epikatekin, dan flavonokumarin (Maldini *et al.*, 2013).

Pada penelitian Sari *et al.* (2013), diketahui adanya aktivitas inhibitor *pancreatic lipase* pada rosella yang mampu menurunkan penyerapan dan pencernaan lipid makanan. Selain itu, berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Havsteen (2002), jati belanda bekerja dengan menghambat enzim HMG CoA reduktase yang berperan dalam proses pembentukan kolesterol, sehingga mampu menurunkan kolesterol dan trigliserida dalam darah. Adanya mekanisme kerja yang berbeda memungkinkan terjadinya efek sinergisme sehingga dilakukan kombinasi kelopak bunga rosella dan daun jati belanda.

Namun demikian, penggunaan kombinasi kelopak bunga rosella dan daun jati belanda dimungkinkan dapat menimbulkan efek toksik akibat adanya interaksi yang terjadi antara senyawa-senyawa yang terkandung dalam kedua tanaman tersebut. Oleh sebab itu, untuk mengetahui keamanan penggunaan dan sebagai dasar melakukan uji aktivitas dilakukan uji toksisitas kombinasi ekstrak kelopak bunga rosella dan daun jati belanda.

Hasil penelitian Onyenekwe *et al.* (2009), diketahui LD₅₀ pada kelopak bunga rosella adalah di atas 5.000 mg/kg BB. Sedangkan LD₅₀ pada jati belanda adalah lebih besar dari 6.324,14 mg/kg BB (Utomo, 2008). Dilakukannya kombinasi kelopak bunga rosella dan daun jati belanda dimungkinkan menimbulkan efek toksik dan memiliki nilai LD₅₀ kurang dari 5.000 mg/kg BB.

Penelitian ini dilakukan untuk menguji toksisitas akut kombinasi kelopak bunga rosella dan daun jati belanda yang dilakukan secara peroral pada tikus putih jantan *Rattus norvegicus* dengan metode OECD (*Organization for Economic Cooperation and Development*) 423. Metode OECD 423 adalah metode pengujian yang menggunakan 3 hewan uji untuk mengetahui toksisitas akut oral dan menggunakan kematian hewan uji sebagai *end point* (OECD, 2001b). Pengamatan ketoksikan dilihat dari adanya kenaikan aktivitas SGPT (*Serum Glutamate Pyruvate Transaminase*) dan SGOT (*Serum Glutamate Oxaloacetate Transaminase*). Kedua enzim tersebut digunakan sebagai parameter ketoksikan karena merupakan inhibitor yang peka terhadap adanya kelainan sel-sel hati dan kadarnya meningkat apabila terjadi kelainan pada hati. Selain itu, dilihat juga nilai potensi ketoksikan akut oral (LD₅₀) untuk mengetahui potensi ketoksikan senyawa kimia yang dapat menimbulkan atau menyebabkan kematian pada 50% hewan uji, sehingga diharapkan dapat diketahui keamanan dari kombinasi ekstrak kelopak bunga rosella dan daun jati belanda

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dari penelitian ini antara lain sebagai berikut:

1. Berapakah kisaran nilai potensi ketoksikan akut oral (LD_{50}) kombinasi kelopak bunga rosella dan daun jati belanda pada tikus putih jantan?
2. Bagaimana pengaruh pemejanaan kombinasi kelopak bunga rosella dan daun jati belanda pada tikus putih jantan terhadap nilai SGPT dan SGOT?

1.3 Tujuan

Penelitian ini memiliki tujuan untuk mengetahui:

1. Kisaran nilai potensi ketoksikan akut oral (LD_{50}) kombinasi kelopak bunga rosella dan daun jati belanda pada tikus putih jantan.
2. Nilai SGPT dan SGOT akibat pemejanaan sediaan kombinasi kelopak bunga rosella dan daun jati belanda pada tikus putih jantan.

1.4 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat yang dilakukan dari penelitian ini antara lain sebagai berikut:

1. Memberikan informasi potensi ketoksikan akut kombinasi ekstrak kelopak bunga rosella dan daun jati belanda sehingga aman untuk dikonsumsi.
2. Dapat dijadikan data awal untuk penelitian selanjutnya yakni uji toksisitas kronik kombinasi ekstrak kelopak bunga rosella dan daun jati belanda.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Rosella

2.1.1 Klasifikasi Rosella

Rosella adalah tanaman alami yang sering digunakan sebagai obat tradisional, hampir semua bagian tanaman ini dapat digunakan sebagai obat tradisional yakni dari kelopak bunga, batang, biji, dan akar. Rosella banyak tumbuh di Afrika Barat, Afrika Tengah, Asia Tenggara dan negara lainnya (Ali, 2005). Diberbagai negara rosella dikenal dengan sebutan yang berbeda-beda, seperti di Perancis dikenal dengan nama *oseille rouge* atau *oseille de guinee* sedangkan di Spanyol dikenal dengan nama *quimbombo chino*, *sereni*, *rosa de jamaica*, *flor de jamaica*, *jamaica*, *agria*, *agrio de guinea*, *quetmia acida*, dan *vinuela* (Maryani, 2005). Kelopak bunga rosella dapat dilihat pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Kelopak bunga rosella (Sumber: Maryani, 2005)

Klasifikasi dari rosella adalah sebagai berikut (Backer dan Brink, 1965):

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Viridiplantae
Divisi	: Magnoliophyta
Subdivisi	: Spermatophytina
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Malvales
Familia	: Malvaceae

Genus : *Hibiscus*
Species : *Hibiscus sabdariffa* L.

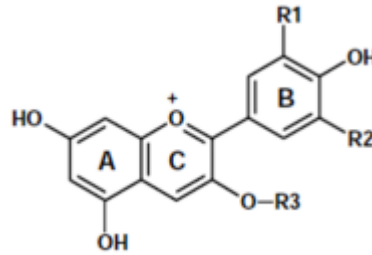
2.1.2 Deskripsi Rosella

Rosella merupakan herba tahunan yang bisa mencapai ketinggian 0,5-3 meter. Batangnya bulat, tegak, berkayu, dan berwarna merah. Daunnya tunggal, berbentuk bulat telur, pertulangan menjari, ujung tumpul, tepi bergerigi, dan pangkal berlekuk. Panjang daun 6-15 cm dan lebarnya 5-8 cm. Tangkai daun bulat berwarna hijau dengan panjang 4-7 cm. Bunga ini mempunyai 8-11 helai kelopak yang berbulu, panjangnya 1 cm, pangkalnya saling berlekatan, dan berwarna merah. Mahkota bunga berbentuk corong, terdiri dari 5 helaian, panjangnya 305 cm. Buahnya berbentuk kotak kerucut, berambut, terbagi menjadi 5 ruang, berwarna merah. Bentuk biji menyerupai ginjal, berbulu, dengan panjang 5 mm dan lebar 4 mm dan pada saat masih muda, biji berwarna putih dan setelah tua menjadi abu-abu (Maryani, 2005).

2.1.3 Kandungan dan Efek Farmakologi Rosella

Di dunia telah tersebar 100 varietas dari rosella, yang paling terkenal adalah varietas sabdariffa dan altissima webster. Kelopak bunga pada varietas sabdariffa dapat dimakan dengan kandungan serat yang kurang banyak sedangkan varietas webster memiliki kandungan serat yang tinggi tetapi tidak dapat dimakan (Maryani, 2005).

Kelopak bunga rosella mengandung beberapa senyawa fenol sederhana dan beberapa senyawa flavonoid (antosianin, antosianidin dan glikosida kuersetin), asam organik dan derivatnya, vitamin C (asam askorbat), B₁ (tiamin), dan B₂ (riboflavin), dan karatenoid (karoten) (Zarrabal *et al.*, 2012). Namun, kandungan antosianin pada kelopak bunga rosella diduga bertanggung jawab terhadap aktivitas antihiperlipidemia (Hopkins *et al.*, 2013). Struktur antosianin dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Struktur Antosianin (Sumber: Laren, 1986)

Rosella dapat meningkatkan HDL dengan dosis 75,6 mg/kg BB pada tikus yang mengalami hiperlipidemia sebesar 29,87 % (Ulfah, 2010). Ekstrak rosella dengan dosis 45 mg/kg BB dapat menurunkan penyerapan dan pencernaan lipid makanan paling baik diantara *Guazuma ulmifolia Lamk*, *Gynura procumbens* (Lour) Merr., dan *Murraya paniculata* (Sari *et al.*, 2013). Hasil penelitian yang dilakukan oleh Aguilar *et al.* (2007) menunjukkan bahwa ekstrak air terstandar bunga rosella yang mengandung antosianin total 33,64 mg per 120 mg ekstrak dapat menurunkan berat badan mencit yang mengalami kegemukan secara signifikan. Ekstrak bunga rosella dapat menyebabkan penurunan kadar lipid karena adanya hambatan pada enzim *fatty acid synthase* (Zarrabal *et al.*, 2012). Penelitian yang dilakukan oleh Prommetta *et al.* (2006) menunjukkan bahwa ekstrak rosella yang diberikan pada tikus dengan dosis 250 dan 1.000 mg/kg BB tidak memberikan efek yang signifikan pada nilai SGPT dan SGOT serta tidak menyebabkan kerusakan pada organ hati.

2.2 Tinjauan Jati Belanda

2.2.1 Klasifikasi Jati Belanda

Jati belanda merupakan salah satu tanaman herba yang banyak digunakan oleh masyarakat Indonesia karena memiliki banyak manfaat. Tanaman ini merupakan familia dari Sterculiaceae. Jati belanda berasal dari Amerika yang kemudian dibawa oleh orang Portugis ke Indonesia dan dikultivasi di Jawa Tengah dan Jawa Timur (Suharmiati dan Maryani, 2003). Diberbagai negara jati belanda memiliki sebutan yang berbeda-beda, seperti Inggris *diwest indian elm* atau *bastard cedar*, di Prancis *orme d'amerique*, dan di Meksiko *guasima* (Hermawati dan Dewi, 2014). Daun jati belanda dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.3 Daun jati belanda (Sumber: pitchandikulam-herboarium. org)

Klasifikasi dari jati belanda adalah sebagai berikut (Backer dan Brink, 1965):

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Viridiplantae
Divisi	: Magnoliophyta
Subdivisi	: Spermatophytina
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Malvales
Familia	: Sterculiaceae
Genus	: <i>Guazuma</i>
Species	: <i>Guazuma ulmifolia</i> Lamk.

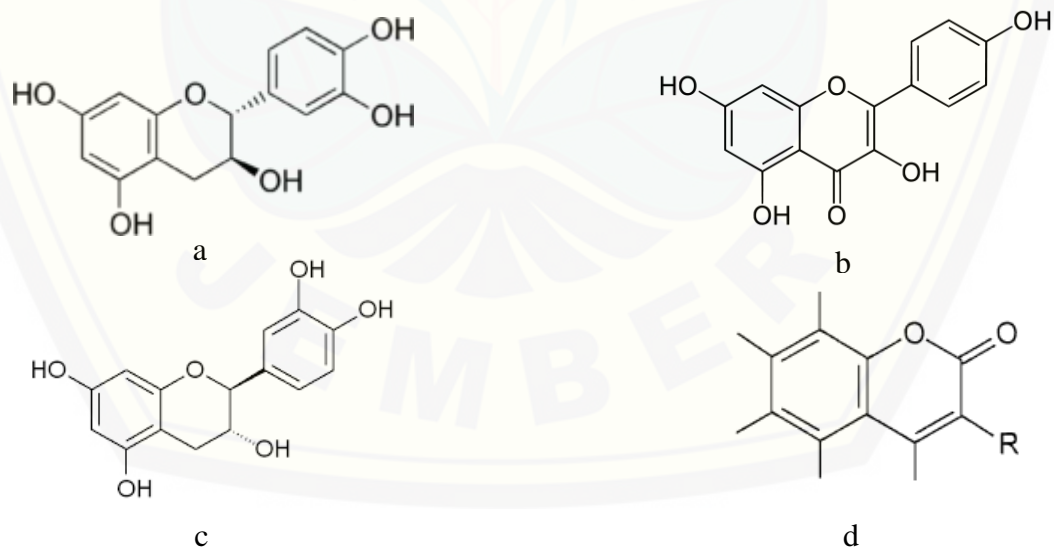
2.2.2 Deskripsi Jati Belanda

Jati belanda merupakan tanaman semak atau pohon dengan tinggi 10-20 m. Berbatang keras, bulat, permukaan kasar, beralur banyak, berkayu, bercabang, berwarna hijau keputih-putihan. Berakar tunggang dengan warna putih kecokelatan. Berdaun tunggal dengan warna hijau, berbentuk bulat telur sampai lanset dengan permukaan kasar, tepi bergerigi, ujung runcing, pangkal berlekuk, pertulangan menyirip, berseling, panjang 4-22,5 cm dan lebar 2-10 cm. Panjang tangkai daun 5-25 mm, mempunyai daun penumpu berbentuk lanset atau berbentuk paku yang panjangnya antara 3-6 mm. Bunga berupa mayang, panjang 2-4 cm, berjumlah banyak, berbentuk agak ramping, dan berbau wangi. Panjang gagang bunga sekitar 5 mm, kelopak bunga lebih kurang 3-4 mm, tajuk terbagi

menjadi 2 bagian, berwarna ungu tua kadang-kadang kuning tua, panjang tajuk 3-4 mm, bagian bawah berbentuk garis dengan panjang 2-2,5 mm. Tabung benang sari berbentuk mangkuk, bakal buah berambut, panjang dan diameter buah 2-3,5 cm. Buah yang telah masak berwarna hitam (Suharmiati dan Maryani, 2003).

2.2.3 Kandungan dan Efek Farmakologi Jati Belanda

Jati belanda memiliki rasa yang agak kelat dan berbau aromatik. Kondisi ini disebabkan adanya senyawa aktif tanin dan musilago. Kedua senyawa aktif ini dapat mengendapkan mukosa protein yang ada di dalam permukaan usus halus sehingga dapat mengurangi proses penyerapan makanan. Dengan demikian, akan menurunkan resiko terjadinya obesitas. Selain itu, daun jati belanda mengandung senyawa golongan flavonoid, yakni katekin, kamferol, epikatekin, dan flavanokumarin (Maldini *et al.*, 2013). Struktur kimia dari katekin, kamferol, epikatekin, dan flavanokumarin dapat dilihat pada Gambar 2.4. Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa pada ekstrak jati belanda terdeteksi flavonoid dan tannin yang kadarnya tinggi (Iswantini *et al.*, 2011).



Gambar 2.4 a: struktur kimia katekin (Sumber: Heroniaty, 2012), b: struktur kimia kamferol (Sumber: Matei, 2016), c: struktur kimia epikatekin (Sumber Heroniaty, 2012), d: struktur kimia kumarin (Sumber: Havsteen, 2002).

Flavonoid merupakan senyawa fenolik yang dapat bekerja sebagai antioksidan dengan cara menangkap radikal bebas (Setiawan, 2008). Gugus yang diduga berperan dalam menagkal radikal bebas adalah gugus hidroksil (OH) dan ikatan rangkap (C=C) (Silva *et al.*, 2002). Senyawa fenol akan bereaksi dengan radikal bebas dengan cara mentransfer atom hidrogen atau donor elektron dengan peranan gugus hidroksil dan ikatan rangkap yang nantinya akan membentuk senyawa yang tidak reaktif (Kandaswani, 1992).

Di Indonesia, daun jati belanda telah digunakan secara tradisional untuk menurunkan berat badan (obesitas) dan mengurangi kadar lemak yang berlebihan (hiperkolesterolemia) (Mardisiswojo dan Rajakmangunsudarso, 1985). Hasil penelitian yang dilakukan oleh Hermawati dan Dewi (2014) menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun jati belanda secara oral dengan konsentrasi sebesar 15% dan 30% mampu menurunkan kadar kolesterol total serum kelinci. Daun jati belanda juga menunjukkan efek hepatoprotektif pada liver tikus yang diinduksi CCl₄ (Sharma *et al.*, 2013). Hasil penelitian Sari *et al.* (2013) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun jati belanda yang diberikan pada tikus putih jantan mampu menurunkan kolesterol sebanding dengan kontrol positif orlistat. Selain itu, fraksi aktif steroid ekstrak daun jati belanda pada tikus dengan dosis 1.000 mg/kg BB menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna pada aktivitas SGPT dan SGOT, sehingga ekstrak daun jati belanda tidak menimbulkan gangguan pada fungsi hati hewan coba tikus yang digunakan (Andriani, 2008).

2.3 Mekanisme kerja Kelopak Bunga Rosella dan Daun Jati Belanda sebagai Antihiperlipidemia

Pada penelitian Sari *et al.* (2013), diketahui kelopak bunga rosella memiliki aktivitas inhibitor *pancreatic lipase* yang mampu menurunkan penyerapan dan pencernaan lipid makanan. *Pancreatic lipase* berperan penting dalam penyerapan kolesterol makanan dan untuk transportasi kolesterol ke sel-sel usus (Huggins, 2003). Apabila *pancreatic lipase* dihambat maka lipid tidak dapat dipecah menjadi asam lemak dan gliserol sehingga tidak terjadi penyerapan lipid

di usus halus. Hal ini menyebabkan lipid akan dikeluarkan bersama feses melalui anus (Toruan, 2007).

Sedangkan pada daun jati belanda terdapat kandungan flavonoid yang mampu menghambat HMG CoA reduktase. HMG CoA reduktase merupakan enzim yang berperan dalam proses pembentukan kolesterol. Adanya fosforilasi CoA reduktase oleh c-AMP (*cyclic adenosine monophosphate*) menyebabkan enzim menjadi tidak aktif. Koenzim c-AMP dipecah oleh c-AMP PDE (*c-AMP phosphodiesterase*) yang dapat dihambat oleh flavonoid. Apabila c-AMP PDE dihambat maka akan terjadi peningkatan pada konsentrasi c-AMP dan fosforilasi HMG CoA reduktase, sedangkan aktivitas HMG CoA reduktase dan sintesis kolesterol akan menurun. Adanya kandungan flavonoid pada daun jati belanda akan menghambat HMG CoA reduktase dengan mediasi penghambatan c-AMP PDE sehingga mampu menurunkan kolesterol dan trigliserida di dalam darah (Havsteen, 2002).

Mekanisme kerja rosella dan daun jati belanda yang berbeda memungkinkan terjadinya efek sinergisme sehingga dilakukan kombinasi kelopak bunga rosella dan daun jati belanda. Akan tetapi, dengan dilakukannya kombinasi dari kedua tanaman tersebut memungkinkan munculnya efek toksik akibat interaksi dari senyawa-senyawa yang ada. Oleh sebab itu, untuk menjamin keamanannya dan sebagai dasar uji aktivitas perlu dilakukan uji toksisitas terlebih dahulu.

2.4 Tinjauan tentang Toksikologi

2.4.1 Definisi Toksikologi

Perkembangan teknologi dan ilmu pengetahuan membuat banyak orang terpejan berbagai bahan pangan atau zat kimia yang berbahaya bagi tubuh, sehingga pada tahun 1900 Sebelum Masehi sampai tahun 1400 Sesudah Masehi berkembang pengetahuan tentang racun dan makanan (Donatus, 2001). Pada saat itu, Paracelsus (1493-1541) menyatakan, semua senyawa adalah racun; tidak ada satu pun yang bukan racun. Menurut Lu (1995), toksikologi ialah kajian tentang hakikat dan mekanisme efek toksik berbagai bahan terhadap makhluk hidup dan

sistem biologi lainnya. Menurut Ariens (1994), toksikologi ialah ilmu pengetahuan mengenai kerja senyawa kimia yang merugikan terhadap organisme hidup. Toksisitas merupakan sifat bawaan suatu zat, bentuk dan tingkat manifestasi toksiknya pada suatu organisme bergantung pada berbagai jenis faktor, yakni faktor dosis dan lamanya pajanan (Lu, 1995). Pada umumnya efek berbahaya atau efek farmakologi timbul apabila terjadi interaksi antara zat kimia dengan reseptor (Wirasuta dan Niruri, 2006). Farmakologi tidak hanya terbatas pada penyelidikan senyawa aktif yang memiliki manfaat melainkan juga mencakup semua senyawa aktif secara biologi termasuk racun, pestisida, kosmetika, dan komponen makanan (Ariens, 1994). Perlu adanya pengetahuan tentang asas umum toksikologi, aneka kondisi atau faktor yang mempengaruhi ketoksikan racun, mekanisme wujud sifat efek toksik racun, tolak ukur toksikologi, dan asas umum uji toksikologi untuk memahami permasalahan toksikologi yang ada (Donatus, 2001).

2.4.2 Asas Umum Toksikologi

Asas umum toksikologi merupakan faktor-faktor yang mempengaruhi timbulnya efek toksik. Pemahaman atas asas umum toksikologi dapat digunakan untuk mengevaluasi keberbahayaan suatu zat. Hasil evaluasi ini selanjutnya untuk menentukan atau memperkirakan batas keamanan suatu zat bila mengenai atau digunakan pada manusia serta cara-cara menggunakannya supaya tidak menimbulkan efek toksik (Priyanto, 2010). Berdasarkan alur peristiwa timbulnya efek toksik, terdapat empat asas umum yang perlu dipelajari dan dipahami, yaitu kondisi pemejanan, kondisi makhluk hidup, mekanisme aksi, wujud dan sifat efek toksik (Donatus, 2001).

a. Kondisi Pemejanan

Sifat fisika kimia racun sangat menentukan keefektifan dalam proses absorpsi, distribusi dan eliminasi racun didalam tubuh, selain hal tersebut kondisi pemejan juga dapat mempengaruhi keefektifan proses tersebut. Semua faktor yang menentukan keberadaan racun di tempat aksi di dalam tubuh yang berkaitan dengan pemejanannya makhluk hidup disebut kondisi pemejanan. Kondisi

pemejanaan dipengaruhi oleh jenis pemejanaan (akut dan kronis), jalur pemejanaan (intravaskular dan ekstrasvaskular), lama dan kekerapan pemejanaan, saat dan takaran pemejanaan (Donatus, 2001).

b. Kondisi Makhluk Hidup

Timbulnya efek toksik juga dipengaruhi oleh kondisi makhluk hidup. Kondisi makhluk hidup adalah keadaan fisiologi dan patologi makhluk hidup, yang dapat mempengaruhi ketersediaan racun di sel sasaran. Kondisi makhluk hidup dipengaruhi oleh keadaan fisiologi dan keadaan patologi makhluk hidup (Donatus, 2001). Keadaan fisiologi berkaitan dengan keefektifan antaraksi antara racun dan sel sasaran serta ketersediaan racun di sel sasaran, yakni berat badan, umur, jenis kelamin dan kehamilan, kecepatan pengosongan lambung, kecepatan alir darah, status gizi, dan genetika sedangkan keadaan patologi berkaitan dengan ragam penyakit yang akan mempengaruhi keefektifan absorpsi, distribusi, dan eliminasi racun dalam tubuh, yakni penyakit saluran cerna, penyakit kardiovaskular, penyakit hati, dan penyakit ginjal (Priyanto, 2010).

c. Mekanisme Aksi

Mekanisme racun dapat memberikan efek toksik. Efek toksik sangat bervariasi dalam sifat, organ sasaran, maupun mekanisme kerjanya. Akan tetapi, mekanisme efek toksik penting untuk dipahami guna mengetahui timbulnya keracunan berkaitan dengan wujud dan sifat efek toksik yang terjadi. Efek toksik dapat berubah karena berbagai hal yakni perubahan absorpsi, distribusi, ekskresi zat kimia dan perubahan kepekaan reseptor pada organ sasaran (Lu, 1995).

Terdapat tiga mekanisme aksi toksik, yaitu mekanisme aksi berdasarkan sifat dan tempat kejadian, mekanisme aksi berdasarkan sifat antaraksi dan mekanisme aksi penumpukan racun dalam gudang penyimpanan tubuh. Mekanisme aksi berdasarkan sifat dan tempat kejadian dibagi menjadi mekanisme luka intrasel dan ekstrasel. Mekanisme luka intrasel adalah luka sela yang diawali oleh aksi racun pada tempat aksinya didalam sel, sedangkan mekanisme luka ekstrasel adalah mekanisme yang terjadi secara tidak langsung, yang diakibatkan senyawa racun baik dalam bentuk induk maupun metabolitnya yang mengakibatkan perubahan bentuk dan fungsi sel (Priyanto, 2010).

Mekanisme aksi berdasarkan sifat antaraksi dibagi menjadi antaraksi yang terbalikan dan antaraksi yang tak terbalikan. Antaraksi yang terbalikan adalah reaksi yang terjadi antara molekul racun dan tempat aksi yang khas, seperti reseptor-reseptor neurotransmitter, tempat aktif enzim, dan lain sebagainya. Sedangkan, antar aksi tak terbalikan adalah antaraksi yang terjadi dengan cara pembentukan ikatan kovalen antara senyawa pengalkil atau metabolit elektrolit dan biopolimer yang memiliki gugus SH atau NH_2 , menghasilkan luka kimia dan selanjutnya efek toksik. Mekanisme berdasarkan risiko penumpukan adalah peristiwa penumpukan yang relatif tidak membahayakan karena didalam gudang penyimpanannya senyawa itu bersifat tidak aktif, akan tetapi secara perlahan-lahan senyawa tersebut akhirnya terlepas ke sirkulasi dan meningkatkan kadarnya yang ada di dalam cairan tubuh. Apabila kadar tersebut melebihi kadar toksis minimum maka akan menimbulkan efek toksik yang tidak diinginkan (Donatus, 2001).

d. Wujud dan Sifat Efek Toksik

Wujud efek toksik yang muncul akibat dari paparan suatu racun. Wujud efek toksik dapat berupa perubahan biokimia, fungsional dan struktural yang saling terkait satu sama lain dalam mekanismenya. Wujud efek toksik ini ada yang bersifat terbalikkan dan ada yang bersifat tak terbalikkan. Respon dan perubahan biokimia dapat berupa aksi atau tempat aksi tertentu di dalam tubuh yang akan ditanggapi dengan berbagai respons biokimia. Respon dan perubahan fisiologi berupa antaraksi antara racun dan reseptor atau tempat aktif enzim yang terbalikkan seringkali dapat mempengaruhi fungsi homeostatis tertentu. Sedangkan, respons histopatologi dan perubahan struktural terjadi akibat racun pangan yang dapat menimbulkan luka selular melalui aksi langsung pada sel sasaran atau tak langsung pada lingkungan ekstrasel, menuju ke perubahan morfologi yang pada akhirnya terwujud sebagai kekacauan struktural, hal ini merespon degenerasi, proliferasi, dan inflamasi sebagai tanggapan terhadap adanya luka selular (Donatus, 2001).

2.5 Ruang Lingkup Toksikologi

Toksikologi merupakan bidang yang didasari oleh multidisiplin ilmu, sehingga ilmu toksikologi ditunjang oleh berbagai ilmu dasar seperti, kimia, biologi, matematika, dan fisika. Menurut Loomis (1979), toksikologi dikelompokkan menjadi tiga kelompok, yakni toksikologi lingkungan, toksikologi ekonomi, dan toksikologi forensik (Wirasuta dan Niruri, 2006).

Toksikologi lingkungan adalah cabang toksikologi yang menguraikan pemejangan yang tak disengaja jaringan biologi (lebih khusus hidup manusia) dengan zat kimia yang pada dasarnya merupakan pencemar lingkungan, makanan atau air. Toksikologi ekonomi merupakan cabang toksikologi yang menguraikan pengaruh berbahaya zat kimia, yang dengan sengaja dipejankan pada jaringan biologi, dengan maksud untuk mencapai pengaruh atau efek khas (misal obat, zat tambahan makanan, pestisida) (Donatus, 2001). Toksikologi forensik merupakan cabang toksikologi yang mengkaji aspek medis dan aspek hukum atas pengaruh berbahaya zat kimia pada manusia (Wirasuta, 2008).

2.6 Uji Toksikologi

Uji toksikologi digolongkan menjadi dua, yaitu uji toksikologi tak khas dan uji toksikologi khas. Uji toksikologi tak khas dilakukan untuk mengevaluasi efek toksik secara keseluruhan dari semua senyawa. Uji tak khas meliputi uji toksisitas akut, sub kronis, dan kronis. Sedangkan, uji toksikologi khas dilakukan untuk mengevaluasi secara rinci efek yang khas suatu senyawa pada beragam jenis hewan uji. Uji khas meliputi uji potensiasi, uji kemutagenikan, uji kekarzinogenikan, uji keteratogenikan, uji reproduksi, uji kulit dan mata, dan uji perilaku (Donatus, 2001).

Uji toksikologi dilakukan untuk mengevaluasi keamanan dan efektivitas suatu obat melalui serangkaian uji agar dapat dipasarkan dan digunakan oleh konsumen (Wirasuta dan Niruri, 2006). Hewan uji yang digunakan dalam uji toksikologi adalah galur tertentu dari mencit, tikus, kelinci, marmot, hamster, anjing atau beberapa uji menggunakan primata (Sukandar, 2004).

2.7 Uji Toksikologi Akut

Uji toksikologi akut dimulai melalui dosis tunggal senyawa uji pada hewan uji yang diberikan melalui jalur yang akan digunakan oleh manusia atau jalur yang memungkinkan manusia terpejani senyawa tersebut. Pengamatan dilakukan selama 24 jam, kecuali pada kasus tertentu yakni 7 sampai 14 hari. Tolak ukur dari uji ini adalah tolak ukur kuantitatif dan kualitatif. Tolak ukur kualitatif meliputi penampakan klinis dan jumlah hewan yang mati (Donatus, 2001). Sedangkan, tolak ukur kuantitatif yakni berupa nilai LD_{50} yang dapat digunakan untuk potensi ketoksikan akut senyawa relatif terhadap senyawa lain, selain itu digunakan untuk memperkirakan takaran dosis uji toksikologi lainnya (Lu, 1995).

LD_{50} adalah besaran yang diturunkan secara statistik dari senyawa kimia yang dapat menimbulkan atau menyebabkan kematian pada 50% hewan uji. Adapun faktor-faktor yang mempengaruhi nilai LD_{50} adalah pemilihan spesies, cara pemberian, dan *exposure* (Barile, 2008).

2.8 Uji Ketoksikan Akut Oral Metode 423

Metode yang pertama kali dikeluarkan oleh OECD adalah pedoman nomor 401 (*Acute Oral Toxicity*) yang merupakan metode tradisional. Metode ini menggunakan hewan uji *rodentia* baik tikus atau mencit dengan mengelompokkannya berdasarkan jenis kelamin yang sama ke dalam beberapa kelompok dosis yang telah ditetapkan. Tiap kelompok terdiri dari 5 hewan uji yang dipejankan senyawa uji secara oral dan dengan dosis yang bertingkat. Uji dilakukan kembali dengan hewan uji dari jenis kelamin berbeda setelah uji pertama selesai (Sitzel dan Carr, 1999).

Untuk memperbaiki dan menggantikan metode OECD 401, OECD mengeluarkan pedoman nomor 420 (*Fixed Dose Procedure*), 423 (*Acute Toxic Class Method*), dan 425 (*Up and Down Procedure*). Semua metode tersebut menggunakan tikus atau mencit sebagai hewan uji dengan jenis kelamin betina. Hal ini karena hewan uji betina lebih sensitif dan untuk mengurangi jumlah hewan uji yang digunakan (OECD, 2001b).

Metode OECD 425, hewan uji diberi seri dosis dengan faktor pengalihan 3,2 dan dosis yang dipilih harus berada dalam jarak LD_{50} dari acuan. Setidaknya menggunakan 1 hewan uji untuk masing-masing dosis. Pemberian dosis selanjutnya dilakukan berdasarkan satu dosis sebelumnya setelah 48 jam. Jika hewan uji hidup, maka dosis selanjutnya dinaikkan dengan faktor kenaikan 3,2. Jika hewan uji mati, maka dosis diturunkan dengan faktor penurunan 3,2. Metode ini nilai LD_{50} ditentukan dengan program AOT425StatPgm (*Acute Oral Toxicity (Guideline 425) Statistical Program*) (OECD, 2001c).

Hewan uji yang digunakan dalam metode OECD 423 lebih sedikit yaitu 3 hewan uji. Metode OECD 423 tidak dapat menentukan nilai LD_{50} secara tepat, tetapi hanya dapat menentukan kisaran nilai dari LD_{50} . Untuk mengklasifikasikan tingkat toksisitas dari senyawa yang diuji maka digunakan satu tingkat dosis tetap. Dengan menggunakan metode ini senyawa dapat dikategorikan menurut *Globally Harmonised Classification System* (GHS). Klasifikasi *Globally Harmonised Classification System* (GHS) dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1. Klasifikasi LD_{50} pada *Globally Harmonized Classification System* (GHS)

Klasifikasi	Keterangan
Kategori 1	Nilai LD_{50} pada kisaran 0-5 mg/kgBB hewan uji
Kategori 2	Nilai LD_{50} pada kisaran >25-50 mg/kgBB hewan uji
Kategori 3	Nilai LD_{50} pada kisaran >200-300 mg/kgBB hewan uji
Kategori 4	Nilai LD_{50} pada kisaran >500-2.000 mg/kgBB hewan uji
Kategori 5	Nilai LD_{50} pada kisaran >2.500-5.000 mg/kgBB hewan uji
Kategori 5 atau tidak terklasifikasi	Nilai LD_{50} > 5.000 mg/kg BB hewan uji

(Sumber: *United Nations*, 2011)

Hewan uji yang sering digunakan adalah tikus, tapi dapat juga digunakan mencit. Hewan ini dipilih karena murah, mudah didapat, dan mudah ditangani. Selain itu juga terdapat banyak data toksikologi mengenai jenis hewan ini, sehingga lebih mudah dalam melakukan perbandingan toksisitas zat-zat kimia (Lu, 1995). Menurut OECD 423 hewan uji yang biasanya digunakan adalah betina karena betina umumnya lebih sensitif. Menurut Donatus (2001), terdapat

perbedaan tingkat dan aktivitas enzim antara tikus jantan dan betina. Tikus betina memiliki kapasitas metabolisme hati lebih rendah. Setiap hewan uji yang digunakan harus berusia antara 8 dan 12 minggu (OECD, 2001b).

Aklimatisasi atau penyesuaian hewan uji terhadap lingkungan minimal dilakukan selama 5 hari. Hewan uji seharusnya dipuaskan sebelum dilakukan pemejanaan dengan tidak diberikan makan namun tetap diberikan minum selama semalam (untuk tikus) atau 3-4 jam (untuk mencit). Makanan dapat diberikan kembali 3-4 jam setelah pemejanaan untuk tikus dan 1-2 jam setelah pemejanaan untuk mencit (OECD, 2001b).

Dosis yang diberikan sama dengan dosis pada metode OECD 420 yaitu 5, 50, 300, dan 2.000 mg/kg BB. Dosis awal dipilih berdasarkan studi pengamatan dosis yang diharapkan menimbulkan kematian pada beberapa hewan uji. Jika informasi tersebut tidak tersedia maka digunakan dosis awal 300 mg/kg BB. Sedangkan jika informasi yang ada menunjukkan pada dosis tertinggi yaitu 2.000 mg/kg BB tidak mungkin ada kematian, maka uji batas harus dilakukan dan diberikan dosis 5.000 mg/kg BB jika masih memungkinkan untuk diberikan dengan hanya 1 kelompok saja (3 hewan uji) (OECD, 2001b).

Hewan uji diamati secara individual setelah pemberian dosis pada 30 menit pertama dilanjutkan secara periodik selama 24 jam pertama dengan pengamatan secara intensif selama 4 jam setelah pemejanaan dan dilanjutkan pengamatan setiap hari sesering mungkin selama 14 hari. Pengamatan tersebut dilakukan pada semua hewan uji yang hidup setelah pemejanaan untuk melihat kondisi toksik yang terjadi (OECD, 2001b).

Kondisi toksik pada tubuh akan menyebabkan kerusakan pada organ hati. Adanya kerusakan pada organ hati akan memicu adanya peningkatan pada enzim transaminase yaitu SGPT (*Serum Glutamate Pyruvate Transaminase*), sering disebut alanin amino transferase (ALT) dan SGOT (*Serum Glutamate Oxaloacetate Transaminase*), sering disebut AST (*Aspartat Aminotransferase*). Karenanya, tes fungsi hati berupa pemeriksaan SGPT dan SGOT perlu dilakukan.

2.9 Tinjauan tentang Hati (Hepar)

Hati (hepar) merupakan organ intestinal terbesar dengan berat antara 1,2-1,8 kg atau kurang lebih 25% berat badan orang dewasa yang menempati sebagian besar kuadran kanan atas abdomen dan merupakan pusat metabolisme tubuh dengan fungsi yang sangat kompleks (Sudoyo, 2009). Di dalam hati mengandung trigliserida yang beberapa berasal dari sintesa endogen, kolesterol, garam empedu, dan lipid. Hati menyimpan berbagai senyawa, termasuk besi dan vitamin₁₂ serta vitamin A. Hati mendetoksifikasi banyak produk metabolik serta obat dan toksin, sebelum diekresikan kedalam urina. Proses detoksifikasi melibatkan perubahan kimia atau konjugasi terutama dengan asam glukuronat dan glisin (Singh *et al.*, 2011).

Hati mempunyai fungsi yang sangat banyak dan kompleks yang penting untuk mempertahankan hidup, yaitu:

a. Fungsi pembentukan dan ekskresi empedu

Hati mengekresikan empedu sebanyak satu liter per hari kedalam usus halus. Unsur utama empedu adalah air, elektrolit, dan garam empedu. Walaupun bilirubin merupakan hasil akhir metabolisme dan secara fisiologis tidak mempunyai peranan penting, akan tetapi penting untuk indikator penyakit hati dan saluran empedu, karena bilirubin dapat memberikan warna pada jaringan dan cairan yang berhubungan dengannya (Sudoyo, 2009).

b. Fungsi metabolik

Hati berperan penting dalam metabolisme protein untuk menghasilkan protein plasma berupa albumin yang diperlukan untuk mempertahankan tekanan osmotik, protrombin, fibrinogen, dan faktor pembekuan lainnya (Sudoyo, 2009).

c. Fungsi regenerasi hati

Hati orang dewasa memiliki kemampuan untuk beregenerasi. Ketika kemampuan hepatosit untuk beregenerasi sudah terbatas maka sekelompok sel yang berasal dari duktulus-duktulus empedu akan berfoliferasi

sehingga terbentuk kembali sel-sel hepatosit dan sel-sel bilier yang tetap mempunyai kemampuan untuk beregenerasi (Sudoyo, 2009).

d. Fungsi Imunologi

Hati merupakan komponen sentral sistem imun. Sel kupffer merupakan sel yang sangat penting dalam menanggulangi antigen yang berasal dari luar tubuh dan mempresentasikan antigen tersebut kepada limfosit (Sudoyo, 2009).

2.10 SGPT dan SGOT

SGPT (*Serum Glutamate Pyruvate Transaminase*) merupakan enzim yang ditemukan pada jaringan tubuh dalam jumlah yang kecil, akan tetapi sangat terkonsentrasi di hati. Apabila terjadi kerusakan pada hati maka enzim ini akan dilepaskan. Berdasarkan Gad (2007), nilai normal SGPT tikus adalah 1,5-30,2 U/L. Pada orang dewasa nilai SGPT yang normal berada dalam rentang 5-50 unit per liter (U/L) (Singh *et al.*, 2011). Apabila terjadi kenaikan sampai 50 kali dari batas normal, kemungkinan terjadi kerusakan hati yang disebabkan oleh virus ataupun penggunaan obat-obatan (Richards, 2006).

SGOT (*Serum Glutamate Oxaloacetate Transaminase*), sering disebut AST (*Aspartat Aminotransferase*) adalah enzim transaminase, yang merupakan katalisator perubahan dari asam amino aspartat dan 2-oxoglutarat menjadi oksaloasetat dan glutamat (*Department of Medical Biochemistry*, 2014). Enzim ini berada pada serum menunjukkan adanya kerusakan terutama pada jaringan jantung dan hati, nilai normal SGOT pada manusia berada dalam rentang 7-40 unit per liter (U/L) (Singh *et al.*, 2011). Berdasarkan Gad (2007), nilai normal SGOT tikus adalah 45,7-80,8 U/L.

SGPT dan SGOT merupakan enzim transaminase yang berperan dalam katalis reaksi enzimatik dalam metabolisme protein (Sudoyo, 2009). SGPT hati lebih tinggi dari ginjal (Richards, 2006), sedangkan SGOT ada dalam jantung, otot skeletal, dan hati hampir sama besarnya (*Department of Medical Biochemistry*, 2014). Ketika hepatosit rusak, maka SGPT dan SGOT akan

dilepaskan ke dalam serum. Hal ini menyebabkan peningkatan aktivitas enzim SGOT dan SGPT dalam serum darah (Sudoyo, 2009).



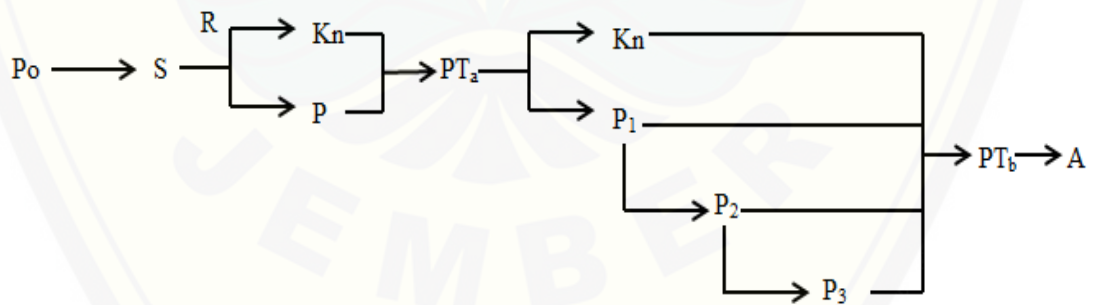
BAB III. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah *true experimental*. Penelitian *true experimental* adalah penelitian yang memberikan manipulasi terhadap variabel bebas, melakukan randomisasi untuk memisahkan sampel penelitian, serta terdapat dua atau lebih kelompok sampel (Swarjana, 2012). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh yang timbul akibat adanya suatu perlakuan tertentu.

3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang dilakukan adalah *pretest-posttest with control group*. Rancangan penelitian ini terbagi atas kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Pengelompokan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dilakukan berdasarkan acak atau random. Kemudian dilakukan *pretest* pada kedua kelompok tersebut dan diikuti perlakuan pada kelompok perlakuan. Setelah beberapa waktu dilakukan *posttest* pada kedua kelompok tersebut. Skema rancangan penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1 Skema Rancangan Penelitian

Keterangan :

Po = Populasi tikus

R = Pengelompokan tikus secara *random assignment*

- S = Sampel
- Kn = Kelompok kontrol normal dengan pemberian CMC Na dan tween
- P = Kelompok perlakuan
- PT_a = Dilakukan pengambilan darah melalui vena mata sebelum pemberian kombinasi ekstrak kelopak bunga rosella dan daun jati belanda pada kelompok kontrol normal dan kelompok perlakuan
- P₁ = Kelompok perlakuan dengan pemberian kombinasi ekstrak kelopak bunga rosella dan daun jati belanda dosis 2.000 mg/kg BB dan dilakukan pengamatan selama 14 hari
- P₂ = Replikasi kelompok perlakuan apabila pada P₁ terdapat satu atau tidak sama sekali tikus yang mati. Kelompok perlakuan diberikan kembali kombinasi ekstrak kelopak bunga rosella dan daun jati belanda dosis 2.000 mg/kg BB dan dilakukan pengamatan selama 14 hari
- P₃ = Replikasi kelompok perlakuan apabila pada P₂ tidak terdapat tikus yang mati. Kelompok perlakuan diberikan kombinasi ekstrak kelopak bunga rosella dan daun jati belanda dosis 5.000 mg/kg BB dan dilakukan pengamatan selama 14 hari
- PT_b = Dilakukan pengambilan darah melalui vena mata setelah pemberian kombinasi ekstrak kelopak bunga rosella dan daun jati belanda pada kelompok kontrol normal dan kelompok perlakuan
- A = Analisis data

3.3 Variabel Penelitian

Jenis variabel penelitian yang digunakan dalam penelitian ini meliputi variabel bebas, variabel terikat, dan variabel terkontrol.

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah peringkat dosis kombinasi rosella dan jati belanda dalam mg/kg BB.

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar SGPT dan SGOT tikus pada pengukuran sampel darah, jumlah kematian hewan coba.

3.3.3 Variabel Terkendali

Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah frekuensi pemberian ekstrak kombinasi rosella dan jati belanda, cara pemberian, jenis (galur) tikus, berat badan tikus, umur tikus dan lamanya pengkondisian sebelum pengujian.

3.4 Definisi Operasional

Pada penelitian ini yang mencakup definis operasional yakni:

- a. Kelopak bunga rosella berasal dari daerah Kabupaten Jember.
- b. Bunga rosella yang digunakan adalah bunga yang berwarna merah dan tua serta kering. Berasal dari tanaman berumur 7 sampai 8 bulan. Bunga rosella dipanen pada bulan Februari 2015. Terlampir surat keterangan identifikasi tumbuhan dari UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi dengan nomor surat: No.1607/IPH.06/HM/XI/2015.
- c. Daun jati belanda dikumpulkan dari daerah Kabupaten Banyuwangi.
- d. Daun jati belanda yang digunakan adalah daun muda dan daun tua serta berasal dari pohon berumur 5 sampai 7 tahun. Daun jati belanda dipanen pada bulan Januari 2015. Terlampir surat keterangan identifikasi tumbuhan dari UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi dengan nomor surat: No.1608/IPH.06/HM/XI/2015.

3.5 Alat dan Bahan

3.5.1 Subyek Uji

Hewan uji yang digunakan adalah tikus jantan galur Wistar dengan umur 8-12 minggu, dan memiliki berat 100-150 gram.

3.5.2 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan hewan, kandang tikus, botol minum tikus, seperangkat alat-alat gelas, termometer, panci infus, *grinder mixer* (Orsatti Single Phase Motor), *rotary evaporator* (Laborta 4000-efficient), oven (Memmert), kompor gas, *freeze dryer* (Zirbus VaCo 5-II-D), alumunium foil, spatula, timbangan analitik (PionerrTM Ohaus), mortir, stamper, spuit injeksi oral 5 mL (One Med), mikropipet (Socorex Swiss), *mikrotube*, alat sentrifugasi (Hettich EBA 20), spektrofotometer untuk pemeriksaan kadar SGPT SGOT (Biolyzer 100).

3.5.3 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: daun jati belanda, kelopak bunga rosella, air, etanol 95%, CMC Na, Tween (Brataco Chemika), akuades (Aqudm Brataco), reagen SGPT SGOT (Fluitest Analyticon), dan *water for injection* (Ika).

3.6 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Fitokimia bagian Biologi Farmasi dan Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Jember mulai bulan 11 Maret sampai 29 Juni 2015.

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Ekstraksi Kelopak Bunga Rosella

Kelopak bunga rosella dicuci bersih dengan air dan dikeringkan pada 50°C dalam oven, potong dadu kecil-kecil, lalu dihaluskan dalam *grinder mixer*, kemudian bubuk kering ditimbang sejumlah yang diperlukan, ditambahkan air sehingga diperoleh konsentrasi simplisia 10%. Ekstraksi dilakukan dengan pemanasan dengan suhu 90°C selama 15 menit (Depkes RI, 1995). Setelah itu disaring dan hasilnya dikeringkan menggunakan *freeze dryer* dan disimpan dalam lemari es.

3.7.2 Ekstraksi Daun Jati Belanda

Daun jati belanda dicuci bersih dengan air dan dikeringkan pada suhu 50°C dalam oven, potong dadu kecil-kecil, lalu dihaluskan dalam *grinder mixer*, kemudian bubuk kering ditimbang sejumlah yang diperlukan dan dimaserasi dengan etanol 95% selama 24 jam. Ekstrak hasil maserasi kemudian disaring dan residu dimaserasi lagi dengan etanol 95% selama 24 jam. Ekstrak etanol diuapkan menggunakan rotavapor pada suhu 60°C di bawah tekanan (Sari *et al.*, 2013).

3.7.3 Uji Toksisitas Akut

a. Aklimatisasi dan pengelompokan hewan uji

Aklimatisasi adalah penyesuaian terhadap lingkungan. Tujuan dari aklimatisasi adalah agar hewan uji dalam kondisi yang stabil, telah mengenal lingkungan untuk percobaan dan tidak ada stress yang mungkin dapat mempengaruhi penelitian yang dilakukan. Aklimatisasi dilakukan selama 5 hari dengan dilakukan pemuasaan (tidak diberikan makanan tetapi tetap diberikan minum) selama semalam sebelum dilakukan pemejanaan terhadap hewan uji dan hewan uji dapat diberikan makan lagi 3-4 jam setelah pemejanaan. Pemuasaan dilakukan untuk mengurangi pengaruh makanan terhadap pemejanaan bahan uji (OECD, 2001b).

Hewan uji dipilih secara acak, dilakukan penandaan untuk memudahkan identifikasi dan kemudian dikelompokkan. Pengelompokan hewan uji berdasarkan metode OECD 423, yaitu tiap kelompok pemberian terdiri dari 3 ekor tikus. Baik kelompok pemejanaan baru untuk dosis yang berbeda maupun kelompok pengulangan dosis dan kelompok kontrol.

b. Penentuan tingkat dosis awal uji ketoksikan akut dengan metode OECD 423

Berdasarkan penelitian Onyenekwe *et al.* (2009), diketahui LD₅₀ pada kelopak bunga rosella adalah di atas 5.000 mg/kg BB. Sedangkan LD₅₀ pada jati belanda adalah lebih besar dari 6.324,14 mg/kg BB (Utomo, 2008). Dilakukannya kombinasi kelopak bunga rosella dan daun jati belanda dimungkinkan

menimbulkan efek toksik dan memiliki nilai LD₅₀ kurang dari 5.000 mg/kg BB. Oleh karena itu, pada penelitian ini digunakan dosis awal 2.000 mg/kg BB.

3.7.4 Pembuatan Suspensi Kombinasi Ekstrak Kelopak Bunga Rosella dan Ekstrak Daun Jati Belanda pada Tingkat Dosis Tertentu

a. Pembuatan Na CMC 0,5%

Suspensi kombinasi ekstrak kelopak bunga rosella dan ekstrak daun jati belanda dibuat dengan mencampurkan bahan uji dengan CMC Na 0,5 % dan tween 1% dari sediaan uji. CMC Na 0,5 % dibuat dengan menimbang 1 gram CMC Na kemudian dikembangkan menggunakan akuades hangat pada suhu 70°C sejumlah 20 kali beratnya. Setelah CMC Na mengembang lalu digerus dengan ditambahkan akuades hingga volume 200 ml dengan menggunakan labu takar.

b. Perhitungan Stok untuk Dosis yang akan Dibuat

1) Pembuatan sediaan ekstrak dosis 2.000 mg/kg BB.

Misal berat badan tikus 150 gram.

$$\frac{2.000 \text{ mg}}{1.000 \text{ g}} = \frac{x \text{ mg}}{150 \text{ g}}$$

$$x = 300 \text{ mg ekstrak}$$

Kombinasi ekstrak kelopak bunga rosella dan daun jati belanda dibuat dengan perbandingan 1:1 dengan anggapan kedua ekstrak tersebut memiliki efek yang sama, sehingga dibutuhkan ekstrak kelopak bunga rosella sebanyak 150 mg dan ekstrak daun jati belanda sebanyak 150 mg. Untuk membuat larutan stok bahan uji sebanyak 25 ml dibutuhkan 3,75 gram ekstrak (1,8 gram ekstrak rosella dan 1,8 gram ekstrak daun jati belanda), dengan perhitungan sebagai berikut: Bahan uji dengan dosis 2.000 mg/kg BB dan volume pemejanan 2 ml untuk 200 gram tikus.

$$\begin{aligned}
 \text{Stok} &= \frac{\text{dosis (mg/kgBB)} \times \text{berat badan (kg)}}{\text{volume pemberian (ml)}} \\
 &= \frac{2.000 \text{ mg/kgBB} \times 150 \text{ g}}{2 \text{ ml} \times 1.000} \\
 &= 150 \text{ mg/ml} \\
 &= 3.750 \text{ mg/25ml} \\
 &= 3,75\text{g/25ml}
 \end{aligned}$$

2) Pembuatan sediaan ekstrak dosis 5.000 mg/kg BB

Misal berat badan tikus 150 gram.

$$\frac{5.000 \text{ mg}}{1.000 \text{ g}} = \frac{x \text{ mg}}{150 \text{ g}}$$

$$x = 750 \text{ mg ekstrak}$$

Kombinasi ekstrak kelopak bunga rosella dan daun jati belanda dibuat dengan perbandingan 1:1 dengan anggapan kedua ekstrak tersebut memiliki efek yang sama, sehingga dibutuhkan ekstrak kelopak bunga rosella sebanyak 375 mg dan ekstrak daun jati belanda sebanyak 375 mg. Untuk membuat larutan stok bahan uji sebanyak 25 ml dibutuhkan 9,375 gram ekstrak (4,68 gram ekstrak rosella dan 4,68 gram ekstrak daun jati belanda), dengan perhitungan sebagai berikut:

Bahan uji dengan dosis 5.000 mg/kg BB dan volume pemejanaan 2 ml untuk 200 gram tikus.

$$\begin{aligned}
 \text{Stok} &= \frac{\text{dosis (mg/kgBB)} \times \text{berat badan (kg)}}{\text{volume pemberian (ml)}} \\
 &= \frac{5.000 \text{ mg/kgBB} \times 150 \text{ g}}{2 \text{ ml} \times 1.000} \\
 &= 375 \text{ mg/ml} \\
 &= 9.375 \text{ mg/25ml} \\
 &= 9,375 \text{ g/25 ml}
 \end{aligned}$$

Ekstrak daun jati belanda dan ekstrak kelopak bunga rosella tersebut kemudian dicampur dan disuspensikan menggunakan CMC Na 0,5%, suspensi sediaan kombinasi ekstrak daun jati belanda dan ekstrak kelopak bunga rosella dibuat sebanyak 25 ml. Masing-masing bahan uji ditimbang dengan berat yang tertera di atas, kemudian ditambahkan suspensi CMC Na 0,5% sebanyak 15 ml dan tween sebanyak 1% dari sediaan uji yakni 0,25 ml sambil diaduk hingga homogen menggunakan mortir dan stamper. Lalu sampel dipindahkan ke dalam labu takar 25 ml dan ditambahkan lagi suspensi CMC Na 0,5% hingga tanda batas lalu dikocok hingga homogen.

3.7.5 Uji Ketoksikan Akut dengan Metode OECD 423 (*Acute Toxic Class Method*)

Sebelum dilakukan uji toksisitas, dilakukan aklimatisasi dan dilakukan pengelompokan hewan uji secara acak. Sebelum dipejankan, hewan uji ditimbang terlebih dahulu dan dihitung volume pemberian untuk masing-masing hewan uji untuk dosis awal 2.000 mg/kg BB. Pemejangan dilakukan pada 1 kelompok perlakuan yaitu kombinasi ekstrak perbandingan 1:1 yang masing-masing kelompok terdiri dari tiga ekor tikus. Setelah itu dilakukan pengamatan secara intensif setiap 30 menit selama 4 jam pertama. Pengamatan tingkah laku hewan coba dilakukan selama 14 hari. Jika terdapat 2-3 hewan uji yang mati, maka dosis diturunkan menjadi 300 mg/kg BB dengan dilakukan pemejangan pada 3 hewan uji yang baru. Jika terdapat satu atau tidak ada sama sekali kematian hewan uji, maka dilakukan pengulangan dosis, yaitu dilakukan pemejangan dengan dosis 2.000 mg/kg BB kembali dengan 3 hewan uji yang baru. Jika tidak ada sama sekali kematian hewan uji, setelah dilakukan pengulangan dosis 2.000 mg/kg BB, maka dosis dinaikan menjadi 5.000 mg/kg BB dengan dilakukan pemejangan pada 3 hewan uji yang baru. Hingga ditemukan nilai LD_{50} *cut off* yang telah dikategorikan oleh GHS (*Globally Harmonised Classification System*).

Kelompok kontrol normal uji toksisitas ini adalah tiga ekor tikus yang dipejan CMC Na 0,5% dan tween 1% dari sediaan yang dibuat. Kelompok kontrol normal ini diuji untuk mengetahui pengaruh CMC Na dan tween terhadap hewan

uji setelah pemejanaan, karena CMC Na dan tween digunakan sebagai pelarut sediaan uji kombinasi ekstrak daun jati belanda dan ekstrak kelopak bunga rosella. Skema alur pengujian ketoksikan oral akut metode OECD 423 dengan dosis awal 2.000 mg/kg BB dapat dilihat pada Gambar 3.2.

3.7.6 Pengamatan

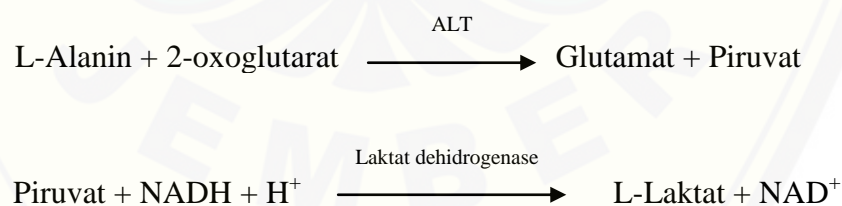
Pengamatan tingkah laku hewan coba sebagai gejala toksik dilakukan selama 14 hari. Pada hari ke-14 hewan coba diambil darah melalui vena mata untuk dilakukan pengukuran SGPT dan SGOT

3.7.7 Pengukuran SGPT dan SGOT

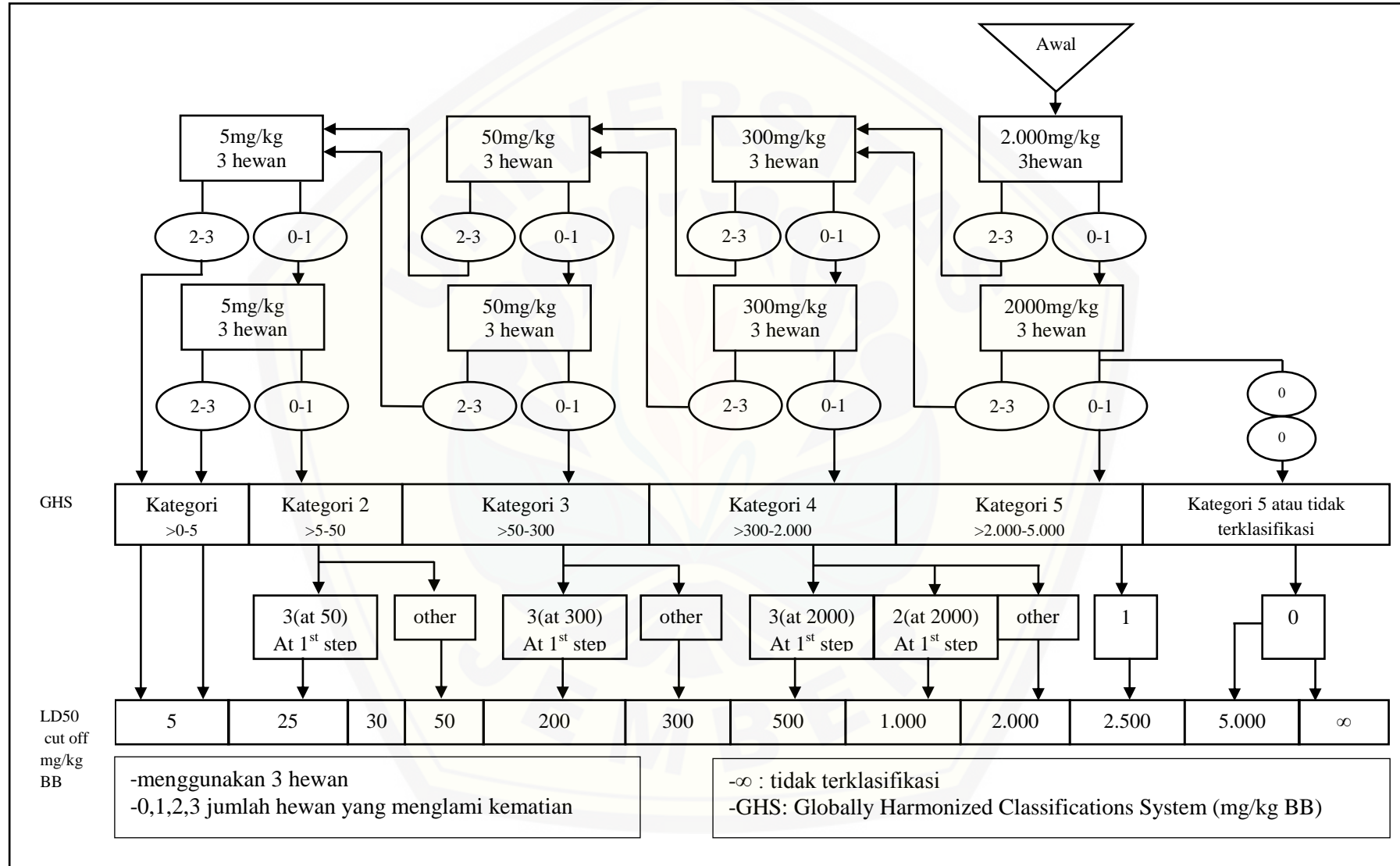
a. Pengukuran Aktivitas SGPT

Adanya enzim SGPT dalam serum yang diperiksa akan mengubah L-alanin dan 2-oxoglutarat menjadi glutamat dan piruvat. Piruvat yang terbentuk akan dijadikan substrat oleh enzim laktat dehidrogenase yang akan direduksi menjadi laktat dengan adanya NADH yang akan teroksidasi menjadi NAD⁺. Oksidasi NADH menjadi NAD⁺ diukur sebagai penurunan absorbansi yang sebanding dengan dengan aktivitas SGPT sampel.

Reaksi pembentukannya adalah sebagai berikut :



Metode pengukuran aktivitas yang digunakan yaitu metode kinetik yang direkomendasikan oleh *International Federation of Clinical Chemistry* (1985). Sampel darah hewan coba diambil melalui vena mata sebanyak 1 mL dan disentrifugasi dengan kecepatan 4.000 rpm selama 10 menit. Setelah itu, serum darah dipipet sebanyak 50 µl untuk dianalisis.



Gambar 3.2 Skema alur pengujian ketoksikan oral akut metode OECD 423 dengan dosis awal 2.000 mg/kg BB(OECD, 2001).

Reagensia reaksi GPT dibuat dengan cara mencampurkan R1 buffer dan R2 substrat dengan perbandingan 5:1 kedalam tabung reaksi. Serum sampel sebanyak 50 μl direaksikan dengan 500 μl reagensia GPT dalam tabung reaksi. Setelah itu aktivitas SGPT diukur dengan spektrofotometer dan menggunakan akuades sebagai blanko. Pembacaan absorbansi dilakukan pada panjang gelombang 340 nm. Data SGPT dinyatakan dalam satuan Unit/Liter (U/L).

Berikut kandungan reagen GPT berupa R1 dan R2 yang akan dicampurkan dengan perbandingan 5:1:

R1:

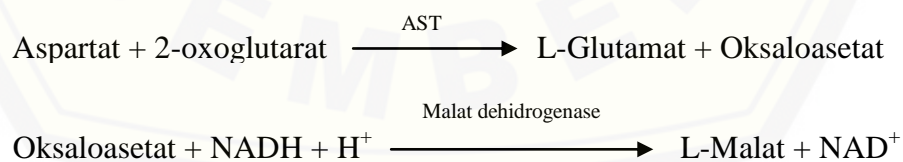
-100 mmol/L Buffer TRIS pH 7,8
 -500 mmol/L L-alanin
 -1200 U/L Laktat Dehidrogenase (LDH)

R2:

-0,18 mmol/L NADH₂
 -15 mmol/L 2-oxoglutarat

b. Pengukuran Aktivitas SGOT

Prinsip pengukuran aktivitas SGOT juga sama dengan prinsip pengukuran aktivitas SGPT yakni menggunakan metode kinetik yang direkomendasikan oleh *International Federation of Clinical Chemistry* (1985). Perbedaannya hanya terletak pada substrat dan enzim yang terlibat. Reaksi pembentukannya adalah sebagai berikut:



Oksaloasetat yang terbentuk akan dijadikan substrat oleh enzim malat dehidrogenase dan akan direduksi menjadi malat dengan adanya NADH yang juga akan teroksidasi menjadi NAD⁺. Oksidasi NADH menjadi NAD⁺ diukur sebagai penurunan absorbansi yang sebanding dengan dengan aktivitas SGOT sampel.

Prosedur kerja pengukuran aktivitas SGOT dalam serum darah sampel memiliki kesamaan dengan pengukuran aktivitas SGPT yang telah dijelaskan sebelumnya kecuali pada reagen yang digunakan. Sampel darah hewan coba diambil melalui vena mata sebanyak 1 mL kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 4.000 rpm selama 10 menit. Setelah itu, serum darah dipipet sebanyak 50 µl untuk dianalisis.

Reagensia reaksi GOT dibuat dengan cara mencampurkan R1 buffer dan R2 substrat dengan perbandingan 5:1 kedalam tabung reaksi. Serum sampel sebanyak 50 µl direaksikan dengan 500 µl reagensia GOT dalam tabung reaksi. Setelah itu, aktivitas SGOT diukur dengan spektrofotometer dan menggunakan akuades sebagai blanko. Pembacaan absorbansi dilakukan pada panjang gelombang 340 nm. Data SGOT dinyatakan dalam satuan Unit/Liter (U/L).

Berikut kandungan reagen GOT berupa R1 dan R2 yang akan dicampurkan dengan perbandingan 5:1 :

R1:

-100	mmol/L	Buffer TRIS pH 7,8
-200	mmol/L	L-aspartat
-800	U/L	Laktat Dehidrogenase (LDH)
-600	U/L	Malat Dehidrogenase (MDH)

R2:

-0,18	mmol/L	NADH ₂
-12	mmol/L	2-oxoglutarat

3.7.8 Analisis Data

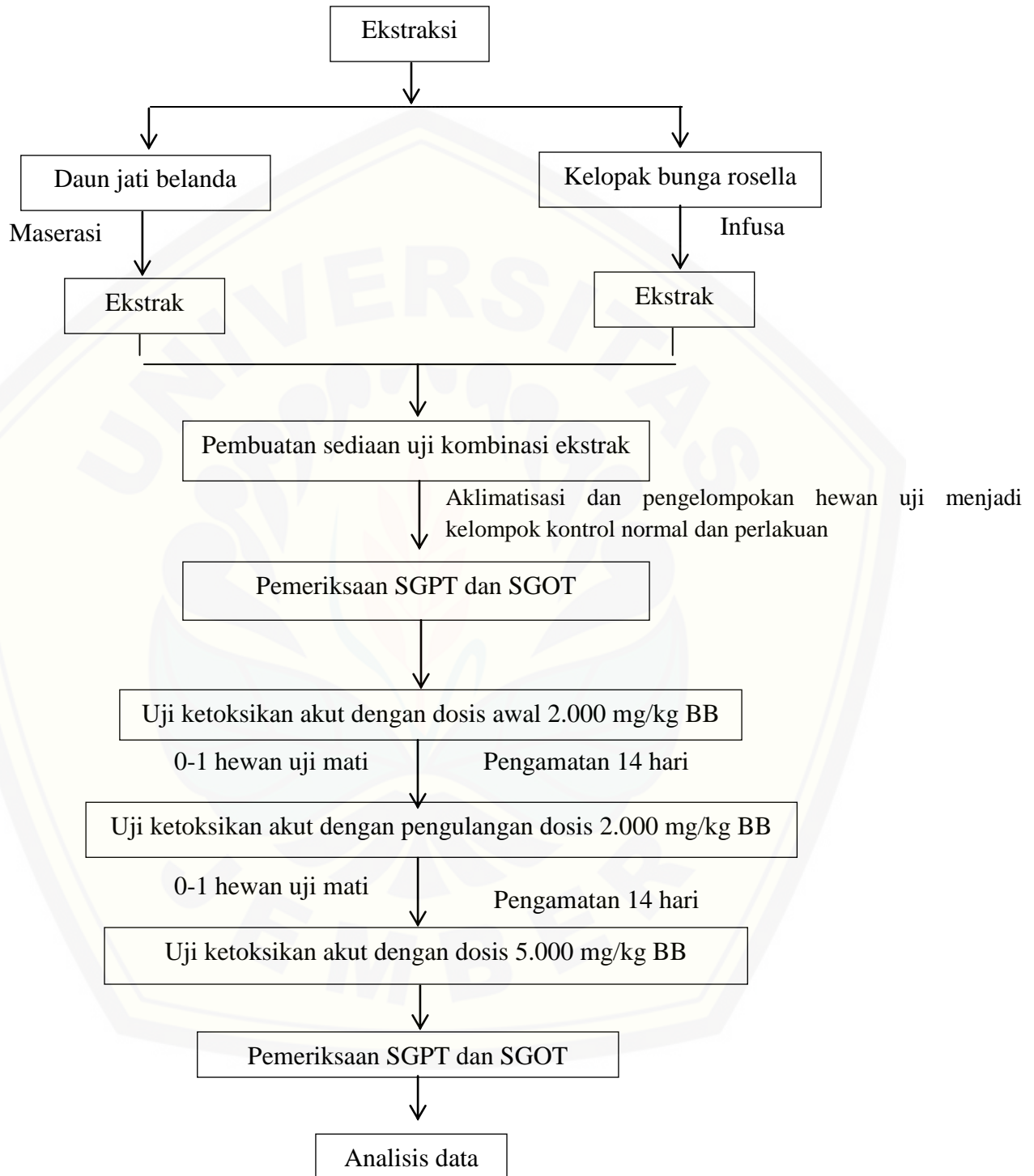
Analisis dilakukan dengan menentukan kisaran nilai LD₅₀ dari hasil uji ketoksikan akut dengan metode OECD 423. Nilai LD₅₀ *cut off* ditentukan berdasarkan kategori dari GHS (*Globally Harmonised Classification System*). Gejala toksik juga dilihat dari data SGPT dan SGOT. Bila terjadi peningkatan pada nilai SGPT dan SGOT karena pemejanaan bahan uji, maka terjadi kerusakan pada hati.

Data SGPT dan SGOT dianalisis dengan menggunakan parameter *Saphiro-Wilk* untuk melihat normalitas distribusi data. Data SGPT dan SGOT sebelum dan sesudah perlakuan pada masing-masing kelompok dianalisis menggunakan uji t berpasangan. Sedangkan, untuk membandingkan nilai SGPT dan SGOT sesudah perlakuan pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan digunakan uji t tidak berpasangan dan data diuji menggunakan *Levene's Test* untuk melihat homogenitas data dengan taraf kepercayaan 95%.

Jika data tidak berdistribusi normal untuk uji t berpasangan dilakukan transformasi data terlebih dahulu, sedangkan untuk uji t tidak berpasangan apabila data tidak berdistribusi normal dan tidak homogen juga dilakukan transformasi data. Apabila variabel baru hasil transformasi tidak berdistribusi normal, data dianalisis menggunakan uji *Wilcoxon* untuk uji t berpasangan. Apabila variabel baru hasil transformasi tidak berdistribusi normal atau tidak homogen, data dianalisis menggunakan uji *Mann-Whitney* untuk uji t tidak berpasangan (Dahlan, 2009).

3.7.9 Skema Alur Penelitian

Skema alur penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.3.



Gambar 3.3 Skema alur penelitian

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pembuatan Ekstrak Kelopak Bunga Rosella

Serbuk simplisia kelopak bunga rosella sebanyak 300,06 gram diekstraksi dengan metode infus menggunakan pelarut air pada suhu 90°C. Hasil infus disaring dan filtratnya dikeringkan menggunakan *freeze dryer* kemudian ekstrak disimpan dalam lemari es. Berat ekstrak yang diperoleh sebanyak 40,26 gram sehingga rendemen ekstrak yang diperoleh sebesar 13,42%.

4.2 Pembuatan Ekstrak Daun Jati Belanda

Serbuk simplisia daun jati belanda sebanyak 600,14 gram diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 95% sebanyak 3 kali. Kemudian maserat disaring menggunakan kertas saring. Filtrat hasil penyaringan diuapkan menggunakan *rotavapor* pada suhu 60°C sampai pelarut menguap. Berat ekstrak yang diperoleh sebanyak 37,12 gram sehingga rendemen ekstrak yang diperoleh sebesar 6,19%.

4.3 Uji Ketoksikan Akut dengan Metode OECD 423 (*Acute Toxic Class Method*)

Peringkat dosis sesuai dengan metode yang digunakan yaitu metode OECD 423 yang memiliki peringkat dosis 5, 50, 300, dan 2.000 mg/kg BB dan penambahan dosis 5.000 mg/kg BB jika memungkinkan. Pada penelitian ini digunakan dosis awal 2.000 mg/kg BB yang terdiri dari perbandingan 1:1 kombinasi ekstrak kelopak bunga rosella dan daun jati belanda.

Kombinasi ekstrak kelopak bunga rosella dan daun jati belanda diberikan per oral pada tikus putih jantan. Dosis bahan uji pada metode OECD 423 diberikan bertahap, dan pemberian dosis selanjutnya tergantung dari jumlah kematian hewan uji yang timbul pada pemejanan sebelumnya.

Hasil penelitian ini menunjukkan setelah pemejanan awal dosis 2.000 mg/kg BB kombinasi ekstrak kelopak bunga rosella dan daun jati belanda tidak terjadi kematian hewan uji, sehingga dilakukan pengulangan pemberian dosis

2.000 mg/kg BB untuk 3 ekor hewan uji baru. Hasil pemberian pengulangan tersebut juga tidak menimbulkan kematian hewan uji, sehingga dapat dilanjutkan pada dosis 5.000 mg/kg BB kombinasi ekstrak kelopak bunga rosella dan daun jati belanda. Hasil pemberian dosis 5.000 mg/kg BB tidak menimbulkan kematian hewan uji.

Penelitian ini menggunakan metode OECD 423 yang nantinya kisaran nilai LD₅₀ ditentukan berdasarkan kategori dari GHS (*Globally Harmonised System*). Jumlah kematian hewan uji dari penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 4.1. Berdasarkan kategori dari *Globally Harmonised System* (2011), maka kombinasi ekstrak kelopak bunga rosella dan daun jati belanda memiliki kisaran nilai LD₅₀ lebih dari 5.000 mg/kg BB atau tidak terklasifikasikan.

Tabel 4.1 Jumlah kematian tikus putih jantan yang dipejankan kombinasi ekstrak kelopak bunga rosella dan daun jati belanda setelah 14 hari

Perlakuan	Jumlah hewan uji	Jumlah kematian hewan uji
Kontrol normal	3	0
P1	6	0
P2	3	0

Keterangan:

Kontrol normal : Kelompok yang diberi CMC Na 0,5% dan tween

P1 : Kelompok perlakuan yang diberi kombinasi ekstrak kelopak bunga rosella dan daun jati belanda dosis 2.000 mg/kg BB

P2 : Kelompok perlakuan yang diberi kombinasi ekstrak kelopak bunga rosella daun jati belanda dosis 5.000 mg/kg BB

4.4 Pengukuran SGPT dan SGOT

Sampel penelitian yang digunakan berjumlah 6 ekor tikus yang terbagi dalam 2 kelompok yakni kelompok kontrol normal dan kelompok perlakuan. Keseluruhan kelompok mendapat perlakuan selama 14 hari. Pada hari pertama serum darah sampel penelitian diambil kemudian diukur untuk melihat nilai SGPT dan SGOT sebelum perlakuan. Data kadar SGPT dan SGOT dapat dilihat pada Lampiran C. Hasil pemeriksaan SGPT dan SGOT sebelum dan sesudah perlakuan pada kedua kelompok dapat dilihat pada Tabel 4.2

Tabel 4.2 Hasil Pemeriksaan Kadar SGPT dan SGOT sebelum dan sesudah perlakuan

Kelompok	SGPT (U/L)*		SGOT (U/L)*	
	Sebelum	Sesudah	Sebelum	Sesudah
Kontrol normal	67,28 ± 18,23	62,72 ± 16,43	163,36 ± 15,31	143,12 ± 9,51**
P2	60,37 ± 2,58	50,78 ± 7,56	132,09 ± 17,55	109,09 ± 4,80**

* merupakan nilai rata-rata ± SD diperoleh dari 3 replikasi

** menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan pada nilai SGOT sesudah perlakuan ($p < 0,05$)

Tabel 4.2 menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara nilai SGPT-SGOT sebelum dan sesudah perlakuan pada masing-masing kelompok yakni kelompok kontrol normal dan kelompok P2 (dosis 5.000 mg/kg BB). Hal ini diketahui dari nilai signifikansi kelompok kontrol pada uji statistik T berpasangan SGPT-SGOT sebelum dan sesudah perlakuan adalah 0,273 dan 0,101 ($p > 0,05$). Sedangkan pada kelompok P2, nilai signifikansi uji statistik T berpasangan SGPT-SGOT sebelum dan sesudah perlakuan adalah 0,080 dan 0,151 ($p > 0,05$). Tidak adanya perbedaan yang signifikan pada kelompok P2 menunjukkan bahwa pada dosis 5.000 mg/kg BB kombinasi ekstrak tidak menyebabkan terjadinya kerusakan pada hati.

Sedangkan apabila kelompok kontrol normal dan kelompok P2 sesudah perlakuan dibandingkan terdapat perbedaan yang signifikan pada nilai SGOT. Hal ini diketahui dari signifikansi uji T tidak berpasangan yang bernilai 0,010 ($p < 0,05$). Adanya perbedaan yang signifikan pada nilai SGOT menunjukkan ekstrak kombinasi kelopak bunga rosella dan daun jati belanda dapat menurunkan nilai SGOT pada tikus. Hal ini dimungkinkan karena menurunnya pelepasan enzim transaminase ke dalam darah yang merupakan indikator kerusakan pada hati. Selain itu, pada kelopak bunga rosella terdapat flavonoid yang berfungsi sebagai antioksidan sehingga memiliki efek hepatoprotektif pada hati. Kandungan flavonoid yakni antosianin pada rosella diduga memiliki efek dalam mengikat radikal bebas (Husen dan Sastramihardja, 2012). Pada daun jati belanda juga terdapat flavonoid yang berfungsi sebagai antioksidan sehingga dapat mengurangi adanya radikal bebas yang bersifat toksik (Setiawan, 2008). Flavonoid merupakan senyawa fenolik yang dapat berperan dalam menangkal radikal bebas menjadi

senyawa yang stabil dan tidak reaktif (Kandaswami, 1992). Adanya gugus hidroksil (OH) dan ikatan rangkap (C=C) diduga berperan dalam menangkalkan radikal bebas (Silva *et al.*, 2002). Gugus tersebut akan bereaksi dengan radikal bebas dan membentuk senyawa yang tidak reaktif. Jika telah terbentuk senyawa yang tidak reaktif maka radikal bebas tidak dapat bereaksi dengan jaringan hati sehingga mencegah kerusakan hati.

Berdasarkan Gad (2007), nilai normal SGPT dan SGOT tikus adalah 1,5-30,2 U/L dan 45,7-80,8 U/L. Sementara pada penelitian ini, nilai SGPT dan SGOT kelompok kontrol normal dan kelompok P2 berada di atas rentang normal (Tabel 4.2). Hal ini dapat disebabkan karena infeksi virus dan degenerasi lemak yang dapat dilihat dari hasil pemeriksaan histopatologi organ hati hewan uji (Hilma, 2016). Menurut Lu (1995), infeksi virus seperti hepatitis dapat meningkatkan enzim SGPT dan SGOT yang terdapat pada hati. Menurut Bayard (2006), adanya degenerasi lemak juga dapat meningkatkan enzim transaminase yang terdapat pada hati yakni SGPT dan SGOT.

Hasil penelitian sebelumnya, menunjukkan bahwa fraksi aktif steroid ekstrak daun jati belanda yang diberikan pada tikus dengan dosis 1.000 mg/kg BB menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna pada aktivitas SGPT dan SGOT, sehingga ekstrak daun jati belanda tidak menimbulkan gangguan pada fungsi hati hewan coba tikus yang digunakan (Andriani, 2008). Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Prommetta *et al.* (2006) menunjukkan bahwa ekstrak rosella yang diberikan pada tikus dengan dosis 250 mg/kg BB dan 1.000 mg/kg BB tidak memberikan efek yang signifikan pada nilai SGPT dan SGOT serta tidak menyebabkan kerusakan pada organ hati.

Namun demikian, penelitian ini hanya dapat melihat efek jangka pendek dari pemberian kombinasi ekstrak kelopak bunga rosella dan daun jati belanda pada hati. Sedangkan efek jangka panjang dari pemberian kombinasi kedua ekstrak tersebut terhadap organ hati masih belum diketahui. Karenanya, masih perlu penelitian lebih lanjut mengenai uji toksisitas sub kronik dan kronik.

Berdasarkan uraian di atas, dapat disimpulkan bahwa kombinasi ekstrak kelopak bunga rosella dan daun jati belanda pada tikus putih jantan tidak

menimbulkan efek toksik pada hati. Selain itu, pada penelitian ini didapatkan kisaran nilai LD₅₀ kombinasi ekstrak kelopak bunga rosella dan daun jati belanda lebih dari 5.000 mg/kg BB.



BAB 5 . KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil uraian pembahasan, maka dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

1. Kisaran nilai potensi ketoksikan akut oral (LD_{50}) kombinasi kelopak bunga rosella dan daun jati belanda pada tikus putih jantan adalah lebih besar dari 5.000 mg/kg BB yang merupakan kategori 5 atau tidak terklasifikasi menurut *Globally Harmonised Classification System (GHS)*.
2. Tidak ada pengaruh yang signifikan untuk nilai SGPT dan SGOT pada masing-masing kelompok perlakuan. Apabila kelompok kontrol normal dan kelompok perlakuan dibandingkan terjadi penurunan nilai SGOT akibat pemejanaan sediaan kombinasi ekstrak kelopak bunga rosella dan daun jati belanda.

5.2 Saran

Saran untuk penelitian selanjutnya adalah perlu dilakukan penelitian pada uji toksisitas subkronis dan kronis pada kombinasi kelopak bunga rosella dan daun jati belanda.

DAFTAR PUSTAKA

- Aguilar, F. J. A., Zamilpa, A., Garcia, D. P., Perez, J. C. A., Romero, E., Sepulveda, E. A. C., Carrillo, L. I. V., dan Ramos, R. R. 2007. Effect of *Hibiscus sabdariffa* on Obesity in MSG Mice. *Journal of Ethnopharmacology*. Vol. 114: 66–71.
- Ali, B. H., Wabel, N. A., dan Blunden., G. 2005. Phytochemical, Pharmacological and Toxicological Aspects of *Hibiscus sabdariffa* L.: A Review. *Phytotherapy Research*. Vol. 19: 369–375.
- Andriani, Y. 2008. Toksisitas Fraksi Aktif Steroid Ekstrak Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk.) terhadap Aktivitas Serum Glutamat Oksalat Transaminase (SGOT) dan Serum Glutamat Piruvat Transaminase (SGPT) Pada Tikus Putih. *Gradien*. Vol. 4 (2): 365-371.
- Ariens, E. J., Mutschler, E., dan Simonis, A. M. 1994. *Toksikologi Umum Pengantar*. Terjemahan oleh Yoke R. Wattimena, Mathilda B. Widiyanto, Elin Yulinah Sukandar. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Barile. 2008. *Principle of Toxicology Testing*. London. New York: CRC Press.
- Bakosurtanal. 2001. *Atlas Flora dan Fauna Indonesia*. Jakarta: Grasindo.
- Backer, dan Van B. D. B. 1965. *Flora Of Java*. Groningen: N.V.P. Noordhoff.
- Baker, H.J., Lindsey, J.R., dan Weisbroth. 1979. *The Laboratory Rat Volume 1 Biology and Diseases*. New York: Academic Press.
- Bayard, M., Holt, J., dan Boroughs, E. 2006. Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *American Family Physician*. Vol.73 (11): 1962-1968.
- Bergmeyer, H. U., Herder, M., dan Rej, R. 1986. International Federation of Clinical Chemistry Methods for the Measurements of Catalytic Concentration of Enzymes. *Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry*. Vol. 24: 481-495.
- Chen, H., J. D., Wang, S. F., Chiang, H. C., Yang, M. Y., Ho, E. S. K. Y. C., dan Wang, C. J. 2003. *Hibiscus sabdariffa* Extract Inhibits the Development of Atherosclerosis in Cholesterol-Fed Rabbits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 23: 48–54.
- Dahlan, M. S. 2009. *Statistik untuk Kedokteran dan Kesehatan*. Jakarta: Salemba Medika.

- Departemen Kesehatan. 2007. *Riset Kesehatan Dasar Indonesia 2007*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Farmakope Indonesia*. Edisi 4. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Department of Medical Biochemistry. 2014. *Transaminase Enzyme Activities*. http://semmelweis.hu/biokemia/files/2014/01/EN_lab_TRANSAMINASE.pdf [19 November 2015].
- Dewoto, H. R. 2007. Pengembangan Obat Tradisional Indonesia Menjadi Fitofarmaka. *Majalah Kedokteran Indonesia*. Vol. 57 (7): 01-07.
- Donatus, I. A. 2001. *Toksikologi Dasar*. Yogyakarta: Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi dan Farmasi Klinik Fakultas Farmasi UGM.
- Gad, S. C. 2007. *Animal Models in Toxicology*. Boca Raton: CRC Press.
- Gosain, S., Ircchiaya, R., Sharma, P. C., Thareja, S., Kalra, A., Deep, A., dan Bhardwaj, T. R. 2010. Hypolipidemic Effect of Ethanolic Extract from the Leaves of *Hibiscus sabdariffa* L. in Hyperlipidemic Rats. *Acta Poloniae Pharmaceutica Drug Research*. Vol. 67 (2): 179-184.
- Havsteen, B. H. 2002. The Biochemistry and Medical Significance of the Flavonoids. *Pharmacology and Therapeutic*. Vol. 97: 67-202.
- Hermawati, R., dan Dewi, H. A. C. 2014. *Berkat Herbal Penyebab Jantung Korener Kandas*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Hilma, N. 2016. "Ketoksikan Akut Kombinasi Ekstrak Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk.) dan Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) dengan Parameter Histopatologi Organ Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus norvegicus*).” Tidak Diterbitkan. Skripsi. Jember: Fakultas Farmasi Universitas Jember.
- Hopkins, A. L., Lamm, M. G., Funk, J. L., dan Ritenbaugh, C. 2013. *Hibiscus sabdariffa* L. in the Treatment of Hypertension and Hyperlipidemia: A Comprehensive Review of Animal and Human Studies. *Fitoterapia*. Vol. 85: 84-94
- Huggins, K. W., Camarota, L. M., Howles, P. N., dan Hui, D. Y. 2003. Pancreatic Triglyceride Lipase Deficiency Minimally Effects Dietary Fat Absorption but Dramatically Decreases Dietary Cholesterol Absorption in Mice. *Journal of Biological Chemistry*. Vol. 278 (44): 42899–42905.

- Husen, I. R., dan Sastramihardja, H. S. 2012. Efek Hepatoprotektif Rosella (*Hibiscus sabdariffa L.*) pada Tikus Model Hepatitis. *Majalah Kedokteran Bandung*. Vol. 44 (2): 83-90.
- Iswantini, D., Silitonga, R. F., Martatilofa, E., dan Darusman, L. K. 2011. *Zingiber cassumunar*, *Guazuma ulmifolia*, and *Murraya paniculata* Extracts as Antiobesity: In Vitro Inhibitory Effect on Pancreatic Lipase Activity. *HAYATI Journal of Biosciences*. Vol. 18 (1): 6-10.
- Jalpa, P., Ashish, D., Patel, A. A., dan Patel, N. M. 2012. Ethnomedicinal, Phytochemical and Preclinical Profile of *Guazuma Ulmifolia* Lam. *Pharma Science Monitor*. Vol. 3 (2): 66-78.
- Kandaswami, C., dan Middleton, E. 1994. Free Radical Scavenging and Antioxidant Activity of Plant Flavonoids. New York: Plenum Press.
- Kumar, K. H. 2013. A Review on Hyperlipidemic. *International Journal of Novel Trends in Pharmaceutical Sciences*. Vol. 3 (4): 59-71.
- Laren, M.C., 1986. *The Colour Science of Dyes and Pigments*. Bristol: Adam HilgerLtd.
- Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. 2013. *Bioresources untuk Pembangunan Ekonomi Hijau*. Jakarta: Lembaga Ilmu Penelitian Press.
- Lin, T. L., Lin, H. H., Chen, C. C., Lin, M. C., Chou, M. C., dan Wang, C. J. 2007. *Hibiscus sabdariffa* Extract Reduces Serum Cholesterol in Men and Women. *Nutrition Research*. Vol. 27: 140-145.
- Loomis, T. A. 1978. *Essentials of Toxicology*. Edisi 3. Philadelphia: Lea & Febiger.
- Lu, F. C. 1995. *Toksikologi Dasar : Asas, Organ Sasaran, dan Penilaian Resiko*. Terjemahan oleh Nugroho. Jakarta : UI Press.
- Matei, L., dan Hilebrand, M. 2010. Interaction of Kaempferol with Human Serum Albumin: A fluorescence and Circular Dichroism Study. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. Vol. 51: 768-773.
- Mihardja, L., Dewi, M., Lestari, C. S. W., Handayani, S., Rofiq, A., Setiawati, V. 2012. *Laporan Riskesdas Tahun 2007 Bidang Biomedis*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.

- Maldini, M., Micco, S. D., Montoro, P., Darra, E., Mariotto, S., Bifulco, G., Pizza, C., dan Sonia, S. 2013. Flavanocoumarins from *Guazuma ulmifolia* Bark and Evaluation of their Affinity for STAT1. *Phytochemistry*. Vol. 86: 64-71.
- Mardisiswojo, S., dan Rajakmangunsudarso, H. 1985. *Cabe Puyang Warisan Nenek Moyang*. Jakarta: Penerbit Balai Pustaka.
- Maryani. 2005. *Khasiat dan Manfaat Rosella*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Notoatmodjo, S. 2012. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: Rineka Cipta.
- Organization for Economic Cooperation and Development (OECD). 2001a. *OECD Guideline for Testing of Chemicals, Acute Oral Toxicity Fixed Dose Procedure* No. 420. Paris: Organization for Economic Cooperation and Development.
- Organization for Economic Cooperation and Development (OECD). 2001b. *OECD Guideline for Testing of Chemicals, Acute Oral Toxicity Acute Toxic Class Method* No. 423. Paris: Organization for Economic Cooperation and Development.
- Organization for Economic Cooperation and Development (OECD). 2001c. *OECD Guidelines for Testing of Chemicals, Acute Oral Toxicity: Up-and-Down Procedure* No. 425. Paris: Organization for Economic Cooperation and Development.
- Onyenekwe, P. C., Anjani, E. O., Ameh, D. A., dan Gamaniel, K. S. 1999. Antihypertensive Effect of Roselle (*Hibiscus sabdariffa*) Calyx Infusion in Spontaneously Hypertensive Rats and a Comparison of its Toxicity with that in Wistar Rats. *Cell Biochemistry and Function*. Vol. 17: 199-206.
- Pithandikulam Forest. *Guazuma ulmifolia* Lam. <http://www.pitchandikulam-herbarium.org/contents/description-leaf.php?id=30>. [07 Desember 2015].
- Priyanto, 2010. *Toksikologi Mekanisme, Terapi Antidotum, dan Penilaian Resiko*. Lembaga Studi dan Konsultasi Farmakologi, Jawa Barat.
- Promphorn, P., Ngam, L.P., Chaichabtipyuth, C., Niwattisaiwong, N., dan Lawanprasert, S. 2006. Aqueous Extract of the Calyces of *Hibiscus subdariffa* Linn.: Effects on Hepatic Cytochrome P450 and Subacute Toxicity in Rats. *Journal Pharmacy Science*. Vol. 30: 8-18.
- Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2014. *Situasi Kesehatan Jantung*. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.

- Richards, T. 2006. *Blood (Serum) Glutamate Pyruvate Transaminase (SGPT) Test*. [https://www.jcmg.org/jcmg.nsf/healthTopicSearch/285E33173BF2435986257845004F3897/\\$file/Blood%20\(Serum\)%20Glutamate%20Pyruvate%20Transaminase%20\(SGPT\)%20Test.pdf](https://www.jcmg.org/jcmg.nsf/healthTopicSearch/285E33173BF2435986257845004F3897/$file/Blood%20(Serum)%20Glutamate%20Pyruvate%20Transaminase%20(SGPT)%20Test.pdf) [19 November 2015].
- Sari, K. L. O. R. 2006. Pemanfaatan Obat Tradisional dengan Pertimbangan Manfaat dan Keamanannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. Vol. 3 (1): 01-07.
- Sari, I. P., Nurrochmad, A., dan Setiawan, I. M. 2013. Indonesian Herbals Reduce Cholesterol Levels in Diet-Induced Hypercholesterolemia Through Lipase Inhibition. *Malaysian Journal of Pharmaceutical Sciences*. Vol. 11 (1): 13–20.
- Setiawan, S. 2008. “Identifikasi Golongan Flavonoid Daun Jati Belanda Berpotensi Antioksidan.” Tidak Diterbitkan. Skripsi. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- Sharma, M., Yashwant, Prasad, S. B. 2013. Hepatoprotective Activity of Guazoma Tomentosa Leaf Extracts Against CCl₄ Induced Liver Damage in Rats. *International Journal of Current Pharmaceutical Review and Research*. Vol. 4 (4): 128-138.
- Singh, A., Bhat, T. K., dan Sharma, O. P. 2011. Clinical Biochemistry of Hepatotoxic. *Journal of Clinical Toxicology*. Vol. 4: 01-19.
- Silva, M.M., Santos, M.R., Gonc, Caroc, A., RUIROCHA, Justino, A., dan Mira, L. 2002. Structure-Antioxidant Activity Relationships of Flavonoids: A Re-Examination. *Free Radical Research*. Vol. 36 (11): 1219–1227.
- Sitzel, K., dan Carr, G. 1999. Statistical Basis for Estimating Acute Oral Toxicity. Comparison of OECD Guidelines 401, 420, 423, and 425. *Up-and Down Procedure Peer Panel Report*.
- Sudoyo, A. W., Setiyohadi, B., Alwi, I., Simadibrata, M., dan Setiati, S. 2009. *Ilmu Penyakit Dalam*. Jakarta: Interna Publishing.
- Sugiarto, A. 2008. *273 Ramuan Tradisional untuk Mengatasi Aneka Penyakit*. Jakarta: PT Agromedia Pustaka.
- Suharmiyati, dan Maryani, H. 2003. *Khasiat dan Manfaat Jati Belanda: Sipelansing dan Peluruh Kolesterol*. Yogyakarta: Agro Media Pustaka.
- Suharjo. 2010. *Hepatitis B Cegah Kanker Hati*. Yogyakarta: Kanisius

- Sukandar, E. Y. 2004. *Tren dan Paradigma Dunia Farmasi Industri Klinik-Teknologi Kesehatan*. Bandung: Departemen Farmasi FMIPA Institut Teknologi Bandung.
- Sukandar, E. Y., Elfahmi, Nurdewi. 2009. Pengaruh Pemberian Ekstrak Air Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk.) terhadap Kadar Lipid Darah pada Tikus Jantan. *Jurnal Kedokteran Maranatha*. Vol. 8 (2): 102-112.
- Sukandar, E. Y., Andrajati, R., Sigit, J. I., Adnyana, I. K., Setiadi, A. A. P. S., dan Kusnandar. 2013. *ISO Farmakoterapi: Buku 1*. Jakarta: PT ISFI.
- Swarjana, I. K. S. K. M. 2012. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Yogyakarta: Penerbit Andi.
- Toruan, P. L. 2007. *Fat loss not Weight Loss*. Jakarta: Transmedia.
- Tuminah, S. 2009. Peran Kolesterol HDL Terhadap Penyakit Kardiovaskuler dan Diabetes Mellitus. *Gizi Indonesia*. Vol. 32(1): 69-76.
- United Nations. 2011. *Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemical (GHS)*. New York & Geneva: United Nations.
- Ulfah, M., Wahyuningrum, A. P., dan Suhardjono. 2010. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanolik Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) Terhadap Kadar High Density Lipoprotein (HDL) Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar Hiperlipidemia. *Jurnal Ilmu Farmasi dan Farmasi Klinik*. Vol. 7 (2): 1-6.
- Utomo, A. W. 2008. "Uji Toksisitas Akut Ekstrak Alkohol Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk) Pada Tikus Wistar." Tidak Diterbitkan. Skripsi. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Widijanti, A. 2004. Pemeriksaan Laboratorium Penyakit Hati dan Saluran Empedu. *Medika*. Vol. 30: 601-671.
- Wijayakusuma, M. H. 2008. *Ramuan Herbal Penurun Kolesterol*. Jakarta: Pustaka Bunda.
- Wirasuta, I. M. A. G., dan Niruri, R. 2006. *Toksikologi Umum*. Bali: Jurusan Farmasi Universitas Udayana.
- Zarrabal, O. C., Maria, D., Dermitz, B., Flores, Z. O., Margaret, P., Jones, H., Hipolito, C. N., Uscanga, M. G. A., Medina, A. M., dan Bujang, K. B. 2012. *Hibiscus sabdariffa* L., Roselle Calyx, from Ethnobotany to Pharmacology. *Journal of Experimental Pharmacology*. Vol. 4: 25-39.

LAMPIRAN A. LEMBAR IDENTIFIKASI TANAMAN

A.1 Lembar Identifikasi Rosella



**LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)
UPT BALAI KONSERVASI TUMBUHAN
KEBUN RAYA PURWODADI**

Jl. Raya Surabaya - Malang Km. 65 Purwodadi - Pasuruan 67163
Telp. (+62 343) 615033, (+62 341) 426046, Faks. (+62 343) 615033, (+62 341) 426046
website: <http://www.krpurwodadi.lipi.go.id>

**SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI**

No. (60)IPH.06/HM/XI/2015

Kepala UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi dengan ini menerangkan bahwa material tanaman yang dibawa oleh :

Nuri, S.Si., Apt., M.Si, NIM : 196904122001121007

Dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember, datang di UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi pada tanggal 17 Nopember 2015, berdasarkan buku Flora of Java, karangan C.A. Backer dan R.C. Bakhuizen van den Brink jr., volume I, tahun 1963, halaman 431 dan PROSEA (Plants Resources of South-East Asia) No 12 (2) ; Medicinal and poisonous plants 2, editor J.L.C.H van Valkenburg dan Bunyapraphatsara, tahun 2002, halaman 297 nama ilmiahnya adalah :

Genus : *Hibiscus*
Species : *Hibiscus sabdariffa L.*

Adapun menurut buku An Integrated System of Classification of Flowering plants, karangan Arthur Cronquist tahun 1981, halaman XVIII adalah sebagai berikut :

Divisio : *Magnoliophyta*
Class : *Magnoliopsida*
Subclass : *Dilleniidae*
Ordo : *Malvales*
Family : *Malvaceae*

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Purwodadi, 24 Nopember 2015

An. Kepala

Kepala Seksi Konservasi Ex-situ,



Deden Mudiana, S.Hut, M.Si

A.2 Lembar Identifikasi Daun Jati Belanda



**LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)
UPT BALAI KONSERVASI TUMBUHAN
KEBUN RAYA PURWODADI**

LIPI

JL. Raya Surabaya - Malang Km. 65 Purwodadi - Pasuruan 67163
Telp. (+62 343) 615033, (+62 341) 426046, Faks. (+62 343) 615033, (+62 341) 426046
website: <http://www.krpurwodadi.lipi.go.id>



SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI

No. 1608/IPH.06/HM/XI/2015

Kepala UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi dengan ini menerangkan bahwa material tanaman yang dibawa oleh :

Nuri, S.Si., Apt., M.Si, NIM : 196904122001121007

Dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember, datang di UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi pada tanggal 17 Nopember 2015, berdasarkan buku Flora of Java, karangan C.A. Backer dan R.C. Bakhuizen van den Brink jr., volume 1, tahun 1963, halaman 408 dan PROSEA (Plants Resources of South-East Asia) No 12 (2) ; Medicinal and poisonous plants 2, editor J.L.C.H van Valkenburg dan Bunyaprhapsara, tahun 2002, halaman 286 nama ilmiahnya adalah :

Genus : *Guazuma*
Species : *Guazuma ulmifolia* Lmk.

Adapun menurut buku An Integrated System of Classification of Flowering plants, karangan Arthur Cronquist tahun 1981, halaman XIV adalah sebagai berikut :

Divisio : *Magnoliophyta*
Class : *Magnoliopsida*
Subclass : *Dilleniidae*
Ordo : *Malvales*
Family : *Sterculiaceae*

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Purwodadi, 23 Nopember 2015

An. Kepala
Kepala Seksi Konservasi Ex-situ,



Deden Mudiana, S.Hut, M.Si

LAMPIRAN B. HASIL RENDEMEN EKSTRAK**B.1 Ekstrak Etanol Daun Jati Belanda**

$$\begin{aligned} \text{Berat simplisia daun jati belanda} &= 600,14 \text{ gram} \\ \text{Berat ekstrak daun jati belanda} &= 37,12 \text{ gram} \\ \text{Rendemen daun jati belanda} &= \frac{\text{berat ekstrak (gram)}}{\text{berat simplisia (gram)}} \times 100\% \\ &= \frac{37,12}{600,14} \times 100\% \\ &= 6,19 \% \end{aligned}$$

B.2 Ekstrak Air Kelopak Bunga Rosella

$$\begin{aligned} \text{Berat simplisia kelopak bunga rosella} &= 300,06 \text{ gram} \\ \text{Berat ekstrak kelopak bunga rosella} &= 40,26 \text{ gram} \\ \text{Rendemen kelopak bunga rosella} &= \frac{\text{berat ekstrak (gram)}}{\text{berat simplisia (gram)}} \times 100\% \\ &= \frac{40,26}{300,06} \times 100\% \\ &= 13,42 \% \end{aligned}$$

Lampiran C. PERHITUNGAN DOSIS UJI KETOKSIKAN AKUT**Dosis 2.000 mg/kg BB replikasi 1**

Misal berat badan tikus 150 gram.

$$\frac{2.000 \text{ mg}}{1.000 \text{ g}} = \frac{x}{150 \text{ g}}$$

$x = 300 \text{ mg}$ ekstrak (150 mg ekstrak etanol daun jati belanda + 150 mg ekstrak air kelopak bunga rosella).

Ekstrak tersebut diberikan dalam volume pemejanaan 2 ml.

Kelompok Kontrol

Diberikan larutan CMC Na 0,5 % dan Tween 1 %

a. Tikus ke-1 BB : 114,2 g

Volume yang diberikan :

$$\frac{2 \text{ ml}}{150 \text{ g}} = \frac{x}{114,2 \text{ g}}$$

$$x = 1,5 \text{ ml}$$

b. Tikus ke-2 BB : 104,8 g

Volume yang diberikan :

$$\frac{2 \text{ ml}}{150 \text{ g}} = \frac{x}{104,8 \text{ g}}$$

$$x = 1,4 \text{ ml}$$

c. Tikus ke-3 BB: 102,1 g

Volume yang diberikan :

$$\frac{2 \text{ ml}}{150 \text{ g}} = \frac{x}{102,1 \text{ g}}$$

$$x = 1,3 \text{ ml}$$

Kelompok Perlakuan Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Jati Belanda dan Ekstrak air kelopak bunga rosella

a. Tikus ke-1 BB : 130 g

Ekstrak yang diberikan :

$$\frac{2000\text{mg}}{1000\text{ g}} = \frac{x}{130\text{ g}}$$

$$x = 260\text{ mg}$$

Volume sediaan yang diberikan :

$$\frac{300\text{ mg}}{2\text{ ml}} = \frac{260\text{ mg}}{x}$$

$$x = 1,7\text{ ml}$$

b. Tikus ke-2 BB : 120,7 g

Ekstrak yang diberikan :

$$\frac{2000\text{mg}}{1000\text{ g}} = \frac{x}{120,7\text{ g}}$$

$$x = 241,4\text{ mg}$$

Volume sediaan yang diberikan :

$$\frac{300\text{ mg}}{2\text{ ml}} = \frac{241,4\text{ mg}}{x}$$

$$x = 1,6\text{ ml}$$

c. Tikus ke-3 BB : 112,5 g

Ekstrak yang diberikan :

$$\frac{2000\text{mg}}{1000\text{ g}} = \frac{x}{112,5\text{ g}}$$

$$x = 225\text{ mg}$$

Volume sediaan yang diberikan :

$$\frac{300\text{ mg}}{2\text{ ml}} = \frac{225\text{ mg}}{x}$$

$$x = 1,5\text{ ml}$$

Dosis 2.000 mg/kg BB replikasi 2

Kelompok Perlakuan Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Jati Belanda dan Ekstrak air kelopak bunga rosella

a. Tikus ke-1 BB : 116 g

Ekstrak yang diberikan :

$$\frac{2000\text{mg}}{1000\text{ g}} = \frac{x}{116\text{ g}}$$

$$x = 232\text{ mg}$$

Volume sediaan yang diberikan :

$$\frac{300\text{ mg}}{2\text{ ml}} = \frac{232\text{ mg}}{x}$$

$$x = 1,5\text{ ml}$$

b. Tikus Ke-2 BB : 101,5 g

Ekstrak yang diberikan :

$$\frac{2000\text{mg}}{1000\text{ g}} = \frac{x}{101,5\text{ g}}$$

$$x = 203\text{ mg}$$

Volume sediaan yang diberikan :

$$\frac{300\text{ mg}}{2\text{ ml}} = \frac{203\text{ mg}}{x}$$

$$x = 1,35\text{ ml}$$

c. Tikus ke-3 BB : 107,5 g

Ekstrak yang diberikan :

$$\frac{2000\text{mg}}{1000\text{ g}} = \frac{x}{107,5\text{ g}}$$

$$x = 215\text{ mg}$$

Volume sediaan yang diberikan :

$$\frac{300\text{ mg}}{2\text{ ml}} = \frac{215\text{ mg}}{x}$$

$$x = 1,4\text{ ml}$$

Dosis 5.000 mg/kg BB

Misal berat badan tikus 150 gram.

$$\frac{5.000 \text{ mg}}{1.000 \text{ g}} = \frac{x}{150 \text{ g}}$$

$x = 750 \text{ mg ekstrak}$ (375 mg ekstrak etanol daun jati belanda + 375 mg ekstrak air kelopak bunga rosella).

Ekstrak tersebut diberikan dalam volume pemejanaan 2 ml.

Kelompok Kontrol

Diberikan larutan CMC Na 0,5 % dan Tween 1%

a. Tikus ke-1 BB : 110 g

Volume yang diberikan :

$$\frac{2 \text{ ml}}{150 \text{ g}} = \frac{x}{110 \text{ g}}$$

$$x = 1,4 \text{ ml}$$

b. Tikus ke-2 BB : 100,5 g

Volume yang diberikan :

$$\frac{2 \text{ ml}}{150 \text{ g}} = \frac{x}{100,5 \text{ g}}$$

$$x = 1,3 \text{ ml}$$

c. Tikus ke-3 BB : 100,5 g

Volume yang diberikan :

$$\frac{2 \text{ ml}}{150 \text{ g}} = \frac{x}{100,5 \text{ g}}$$

$$x = 1,3 \text{ ml}$$

Kelompok Perlakuan Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Jati Belanda dan Ekstrak air kelopak bunga rosella

a. Tikus ke-1 BB : 122,7 g

Ekstrak yang diberikan :

$$\frac{5000\text{mg}}{1000\text{ g}} = \frac{x}{122,7\text{ g}}$$

$$x = 613,5\text{ mg}$$

Volume sediaan yang diberikan :

$$\frac{750\text{ mg}}{2\text{ ml}} = \frac{613,5\text{ mg}}{x}$$

$$x = 1,6\text{ ml}$$

b. Tikus ke-2 BB : 113 g

Ekstrak yang diberikan :

$$\frac{5000\text{mg}}{1000\text{ g}} = \frac{x}{113\text{ g}}$$

$$x = 565\text{ mg}$$

Volume sediaan yang diberikan :

$$\frac{750\text{mg}}{2\text{ ml}} = \frac{565\text{ mg}}{x}$$

$$x = 1,5\text{ ml}$$

c. Tikus ke-3 BB : 105,5 g

Ekstrak yang diberikan :

$$\frac{5000\text{mg}}{1000\text{ g}} = \frac{x}{105,5\text{ g}}$$

$$x = 527,5\text{ mg}$$

Volume sediaan yang diberikan :

$$\frac{750\text{ mg}}{2\text{ ml}} = \frac{527,5\text{ mg}}{x}$$

$$x = 1,4\text{ ml}$$

LAMPIRAN C. KADAR SGPT DAN SGOT**C.1 Kadar SGPT Sebelum dan Sesudah Perlakuan**

Kelompok	Kadar SGPT sebelum (U/L)	Kadar SGPT sesudah (U/L)	Rata-rata \pm SD Sebelum	Rata-rata \pm SD sesudah
Kontrol Positif	46,41	45,38	67,28 \pm 18,23	62,72 \pm 16,43
	75,36	64,72		
	80,08	78,06		
dosis 5.000 mg/kg BB	59,01	47,40	60,37 \pm 2,58	50,78 \pm 7,56
	63,35	59,45		
	58,76	45,49		

C.2 Kadar SGOT Sebelum dan Sesudah Perlakuan

Kelompok	Kadar SGPT sebelum (U/L)	Kadar SGPT sesudah (U/L)	Rata-rata \pm SD sebelum	Rata-rata \pm SD sesudah
Kontrol Positif	173,30	141,74	163,36 \pm 15,31	143,12 \pm 9,51
	145,72	138,13		
	171,06	149,51		
dosis 5.000 mg/kg BB	140,26	109,29	132,09 \pm 17,55	109,09 \pm 4,80
	144,07	108,95		
	111,95	109,04		

LAMPIRAN D. ANALISIS DATA**D.1 Hasil Uji Normalitas *Saphiro-Wilk* Kelompok Kontrol Sebelum dan Sesudah Perlakuan****Tests of Normality**

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk
	Statistic	Df	Sig.	Statistic
kelompok kontrol				
data kelompok kontrol				
kontrol sgot pre	.359	3	.	.810
kontrol sgot post	.261	3	.	.957
kontrol sgpt pre	.338	3	.	.853
kontrol sgot post	.215	3	.	.989

a. Lilliefors Significance Correction

D.2 Hasil Uji Normalitas *Saphiro-Wilk* Kelompok Perlakuan Dosis 5.000 mg/kg BB Sebelum dan Sesudah Perlakuan**Tests of Normality**

	kelompok perlakuan	Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
data kelompok perlakuan				
	perlakuan sgot pre	.838	3	.208
	perlakuan sgot post	.931	3	.493
	perlakuan sgpt pre	.791	3	.093
	perlakuan sgpt post	.850	3	.242

D.3 Hasil *Levene's Test* Sesudah Perlakuan Pada Kedua Kelompok**Independent Samples Test**

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means	
		F	Sig.	T	df
post sgot	Equal variances assumed	7.664	.050	10.132	4
	Equal variances not assumed			10.132	2.004

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means	
		F	Sig.	T	df
post sgpt	Equal variances assumed	1.306	.317	1.143	4
	Equal variances not assumed			1.143	2.812

D.4 Hasil Analisis Data SGPT dan SGOT Menggunakan Uji t Bepasangan Pada Kelompok Kontrol**Paired Samples Test**

		T	df	Sig. (2-tailed)
Pair 1	kontrol sgot pre - kontrol sgot post	2.911	2	.101
Pair 2	kontrol sgpt pre - kontrol sgpt post	1.495	2	.273

D.5 Hasil Analisis Data SGPT dan SGOT Menggunakan Uji t Bepasangan Pada Kelompok Perlakuan**Paired Samples Test**

		t	df	Sig. (2-tailed)
Pair 1	klp perlakuan sgot pre - klp perlakuan sgot post	2.274	2	.151
Pair 2	klp perlakuan sgpt pre - klp perlakuan sgpt post	3.323	2	.080

D.6 Hasil Analisis Data SGPT Menggunakan Uji t Tidak Berpasangan**Independent Samples Test**

		t-test for Equality of Means		
		Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference
post sgpt	Equal variances assumed	.317	11.94000	10.44484
	Equal variances not assumed	.341	11.94000	10.44484

D.7 Hasil Analisis Data SGOT Menggunakan Uji t Tidak Berpasangan**Independent Samples Test**

		t-test for Equality of Means		
		Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference
post sgot	Equal variances assumed	.001	34.03333	3.35903
	Equal variances not assumed	.010	34.03333	3.35903